

國立臺灣大學獸醫專業學院獸醫學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Veterinary Medicine

School of Veterinary Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子分析暨

全臺家禽場飼料之沙門氏桿菌污染調查

The identification of risk factors for *Salmonella* contamination in  
broiler farms in northern Taiwan and the survey for *Salmonella*  
contamination of poultry feeds in Taiwan

黃凰綺

Huang-Chi Huang

指導教授：蔡向榮 博士

Advisor : Hsiang-Jung Tsai, D.V.M., Ph.D.

中華民國九十八年六月

June, 2009

## 致謝

本論文係承蒙恩師 蔡向榮教授之指導，此論文在您對於學生研究方向的啟發、實驗工作的全力支持並逐字細心地審閱下，始得以順利完成；感謝恩師長久以來充份給予學習的機會與空間，並總是不棄學生駑鈍的耐心教導、慷慨借出書本，讓我從獸醫的門外漢到現在覺得獸醫系就是自己的第二個家，謝謝您始終以寬厚的包容和支持，讓我有機會在這學習資源豐富的校園內能藉著持續的努力，把夢想一步步實現。

也感謝口試委員 連一洋博士與 周崇熙博士於百忙中審閱論文，愷切指導與斧正，使本論文更趨完整。此論文在多方面的協助下俾得以順利完成，特別感謝各縣市防治所與獸醫師的協助，以及北區家禽保健中心志工 張啟德組長、周政宏先生、羅吉寰先生、郭進益先生以及曾繁延先生等人，各位協助最辛苦的採樣工作並不厭其煩的指導許多寶貴的禽場知識與經驗您的協助確實是推動此研究調查最有力的那雙手。

一路走來我曾受到許多溫暖的鼓勵與協助，感謝 李一凡老師對於我人生價值觀的指引與開導、林逸莒醫師讓我對動物的單純熱愛轉為更進一步付出的體認、王 穎教授開啟我對野生動物生態保育的視野、以及臺灣動物科技研究所 楊平政老師與臺大醫學院 謝松蒼教授在學術研究與未來方向的協助；以上各位都是學生的人生導師，您豎立了良好的典範，在我人生不同階段中所帶來的啟發與指引，對我的影響甚鉅，故特在此獻上最誠摯的謝意。

同時也要感謝摯友皓媛、Lillian長久以來總是給予我最懇切的建議與支持，待我如親妹妹的嫩宜、靜宜學姊，還有燕萍、麗璇學姊在學業上的鼓勵與人生經驗的分享，可愛又貼心的學妹彤安、瑋瑛、富琪、琳晶溫馨的陪伴與實驗上的協助，以及臺大人畜共通傳染病研究中心優秀的夥伴們：育君、志嶽、健聰、金玉，謝謝你們豐富了我實驗室裡、培養皿外的生活。最後感謝我最摯愛的家人，我的父母親 黃錦派先生與 江阿桃女士，謝謝您以長年的辛勞撫育我成長，並賜與我們五姊妹最溫暖的港灣；亦感謝男友帥羊俊明多年來始終以體貼與包容，陪伴我度過無數辛苦與挫折的時刻，我愛你們！

僅以本論文之成果與喜悅奉獻予各位，願本論文能為我國家禽場污染防治盡份心力。

黃凰綺 98年六月於台大獸醫學研究所

## 摘要

沙門氏桿菌是重要的人畜共通傳染病原，長久以來家禽被認為是媒介人類感染的主要來源之一，而白肉雞是消費量最大的肉雞品種，故其飼育過程之管控相當值得關注。為瞭解北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子以作為禽場飼養管理之參考，進行以問卷調查及沙門氏桿菌檢測為基礎的病例對照研究，自 2008 年 4 月至 2009 年 5 月間共調查 41 個白肉雞場，包括 14 場開放式與 27 場水簾式雞場，於各場擇一雞舍調查。經前預備試驗後首度建立適用於北臺灣地區白肉雞場風險因子調查之研究方法，以連續 3 個時間點採樣並各採集雞隻臟器與飼料進行檢測。結果顯示場陽性率為 56.1 %，且雞場型態對於污染之影響未達顯著差異 ( $p > 0.05$ )，經分析得知有 10 個風險因子雖未達統計學顯著水準，但其勝算比值顯示可能與減少禽場污染有關，包括：(1)水簾式雞舍之型式為一層而非多層；(2)雞場入口具有需以鑰匙開啟之門鎖；(3)當雞隻飲水非自來水但先經處理過再使用；(4)定期清掃雞場內之犬貓糞便；(5)工作人員每天換洗工作服與工作鞋；(6)雞場具有圍牆與外界隔離；(7)進入雞舍前有一獨立之室內空間可供更換工作服與清潔雙手；(8)雞隻運送至雞舍時之容器非重複使用之塑膠籠；(9)雞隻來源為單一種雞場；(10)墊料使用前先移除發霉或結塊部份。另外，臺灣北部之氣候因子可能值得特別注意，本研究結果顯示禽場污染於涼季顯著提高 ( $p < 0.05$ )。

此外，有鑑於遭污染之家禽飼料可於禽場快速地傳播病原，故進行於家禽場進行之飼料採樣調查，並比較不同採樣點與 6 種培養基搭配組合之分離效果；檢測結果顯示沙門氏桿菌總分離率為 7.6 % (59/778)、場陽性率 21.4 % (33/154)；檢測件共涵括 16 種商業品牌，陽性檢體集中分離自 5 品牌。統計分析結果顯示：(1)不同飼料品牌之分離率呈顯著差異；(2)採樣點中最易取得之飼料槽檢體分離結果顯示，白肉雞飼料之分離率顯著高於其他禽種；(3)不分採樣點統計，種雞飼料之污染顯著高於其他飼料；(4)整體而言，禽場飼料分離沙門氏桿菌之培養基分離效果以 RVS 搭配 XLD 最佳，RVS 搭配 CAS 居次 ( $p < 0.05$ )。

關鍵詞: 沙門氏桿菌、白肉雞、風險因子、勝算比、飼料

## Abstract

*Salmonella* is an important pathogen in terms of zoonoses, poultry has been thought to be one of the major medium for human salmonellosis. Broiler chickens are one of the most commonly consumed chicken breed in Taiwan, therefore monitor it's rearing and feeding conditions are very important. In order to alleviate the risk at commercial broiler chicken farms, a questionnaire based retrospective case-control study was conducted to identify risk factors with *Salmonella* contamination during the broiler rearing period. Forty-one broiler farms in northern Taiwan were studied from April 2008 to May 2009, included 14 open-sided and 27 wet pad cooling system housing type of chicken farms. All of the flock size was larger than 10,000 and only one house was studied in each farm. Through preliminary study, methods for the investigation of the broiler farms risk factor were established. Samples were taken at three consecutive time-points, visceral organs of chickens and feeds were also collected for further analysis. The results showed a flock positive rate of 56.1 % and the housing type of farms did not have a significant effect on *Salmonella* contamination ( $p > 0.05$ ). Through data analysis, odds ratios of ten risk factors indicated that they may associate with the decrease in poultry farm contaminations although not statistically significant. These risk factors includes: (1) pad cooling system house which are single layered instead of multiple; (2) the entrance of the farm is locked; (3) none-tap drinking water for animals are pre-treated; (4) dog/cat feces are regularly cleaned in the farm; (5) workers outfits are changed and cleaned on a daily basis; (6) the farm is separated from the outside by a wall; (7) a

single indoor room available for changing clothes and cleaning hands before entering the chicken house; (8) The cages used for transporting day-old chick are not reusable plastic cages; (9) a single source for day-old chick; (10) molds or coagulated litters are removed before use. Moreover, the weather factor of northern Taiwan is also worth mentioning, since contamination of *Salmonella* in broiler farms is significantly higher in colder seasons ( $p < 0.05$ ).

Since contaminated poultry feeds may aid in the process of *Salmonella* spreading in poultry farms, an investigation of poultry feeds were also performed. Different sampling sites and isolation treatment methods were compared. The result shows a total *Salmonella* isolation rate to be 7.6 % (59/778), flock positive rate was 21.4 % (33/154). Feed samples included 16 different brands, *Salmonella* were isolated from five of the brands. The data analysis showed (1) isolation rate of different brands are significantly different; (2) isolation rate of feed troughs from broiler house showed a significantly higher isolation rate than from other types of poultry; (3) not taking sampling site into account, breeder chicken feeds have a higher contamination rate than other types of feeds; (4) Overall, the best culturing medium for *Salmonella* isolation from chicken feeds is to use RVS plus XLD. ( $p < 0.05$ ).

Key word: *Salmonella* spp., salmonellae, broiler, risk factor, odds ratio, feed, feedstuff

## 目錄

中文摘要	.....	I
英文摘要	.....	II
目錄	.....	IV
表次	.....	VI
圖次	.....	VIII
第一章 前言		1
第二章 文獻回顧		
第一節 沙門氏桿菌之研究背景		
2-1.1 沙門氏桿菌症與宿主特異性.....		2
2-1.2 沙門氏桿菌之毒力因子與致病特性.....		2
2-1.3 臺灣地區沙門氏桿菌之流行病學調查.....		7
第二節 家禽污染沙門氏桿菌調查		
2-2.1 沙門氏桿菌於白肉雞產業之影響與概況.....		10
2-2.2 家禽沙門氏桿菌流行型別之改變與趨勢.....		10
2-2.3 各國家禽污染沙門氏桿菌之風險因子調查概況.....		12
2-2.4 其他值得注意之風險因子.....		17
第三節 家禽飼料污染沙門氏桿菌之調查與防治方法		
2-3.1 各國的流行病學調查結果.....		18
2-3.2 飼料工業的防治方法.....		21
2-3.2.1 飼料製程之危害管制點.....		21
2-3.2.2 其他應用於飼料業之防治措施.....		21
第三章 材料與方法		
第一節 北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌調查		
3-1.1 試驗設計.....		24
3-1.2 調查與試驗方法.....		25
3-1.2.1 雞場設施與飼育條件之問卷調查.....		25
3-1.2.2 採樣時間與樣本種類.....		26
3-1.3 沙門氏桿菌分離與鑑定方法.....		27
3-1.4 統計分析方法.....		28
第二節 臺灣地區家禽場飼料污染沙門氏桿菌調查		
3-2.1 試驗設計.....		29
3-2.1.1 採樣策略.....		29
3-2.1.2 飼料檢體之採樣方法.....		30
3-2.2 沙門氏桿菌之分離與鑑定.....		31
3-2.3 統計分析方法.....		31
第四章 結果		

第一節	北臺灣地區白肉雞場污染沙門氏桿菌風險因子調查	
4-1.1	前預備試驗調查結果.....	32
4-1.2	北臺灣地區調查結果整合.....	34
4-1.3	北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子.....	36
4-1.4	沙門氏桿菌污染於雞場之分佈情形.....	36
4-1.5	沙門氏桿菌分離株之血清型鑑定.....	37
第二節	臺灣地區家禽飼料污染沙門氏桿菌調查	
4-2.1	前預備試驗.....	38
4-2.2	調查結果整合.....	40
4-2.3	不同檢體種類與培養基分離效果之比較.....	41
4-2.4	沙門氏桿菌分離株之血清型鑑定.....	41
第五章	討論	
第一節	北臺灣地區白肉雞場污染沙門氏桿菌風險因子調查.....	43
第二節	臺灣地區家禽飼料污染沙門氏桿菌調查.....	47
圖表	.....	50
參考文獻	.....	67
附錄一	、家禽場之飼養管理與感染沙門氏桿菌之風險因子問卷.....	79
附錄二	、白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子分析結果.....	86



## 表次

### **Part I. The identified of risk factors for *Salmonella* contamination in broiler farms in northern Taiwan.**

Table 1. The distribution of broiler farms with chicken flock size larger than 10,000 in northern Taiwan. Data was surveyed by Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan during 2008, 3 <sup>rd</sup> season.....	49
Table 2. The distribution of flock sizes and type of housing in preliminary study.....	49
Table 3. The distribution of salmonellae isolates from different location and housing type in preliminary study.....	50
Table 4. The profile of the broiler farms in preliminary study.....	50
Table 5. The sanitation of equipment in preliminary study.....	51
Table 6. The general controls on broiler farms in preliminary study.....	52
Table 7. The feeding plans in broiler farm in preliminary study.....	53
Table 8. The salmonellae isolation rates of different sample type at various sampling time in preliminary study.....	54
Table 9. The distribution of flock size and type of housing in the study.....	54
Table 10. The profile of the broiler farms in this study.....	55
Table 11. The hygiene apparatus and control in broiler farms.....	56
Table 12. The general controls on broiler farms.....	57
Table 13. The feeding plans in broiler farms.....	58
Table 14. Factors reducing risk for salmonellae contamination.....	59
Table 15. Factors increasing risk for salmonellae contaminant.....	59
Table 16. The Identification result of salmonellae isolates.....	59



**Part II. The survey for *Salmonella* contamination of poultry feeds in Taiwan.**

Table 17. Positive rates (%) of salmonellae from different locations and feed types and the total positive isolate rate in preliminary study.	60
Table 18. Distribution analysis of sampling feed type and location in preliminary study.	60
Table 19. Salmonellae isolation rate of different feed brands in preliminary study.	61
Table 20. The effectiveness of isolation treatment in preliminary study.	62
Table 21. The distribution of Salmonellae isolates from different kinds of feed samples and localities in final result.	62
Table 22. The frequencies of salmonellae strains isolated from different sampling sites.	63
Table 23. Identification of serotype of salmonellae strains from poultry feeds.	63



## 圖次

- Fig 1. The experiment design flow chart of “The identification of risk factors for salmonellae contamination in broiler farms in northern Taiwan” 64
- Fig 2. A flow sheet of the experiment design of the study of “the survey for salmonellae contamination of poultry feeds in Taiwan” 65



## 第一章 緒言

沙門氏桿菌 (*Salmonellae* spp.) 為革蘭氏陰性桿菌，可依據其體抗原 (somatic antigen)、鞭毛抗原 (flagella antigen) 以及莢膜抗原 (capsule antigen) 進行血清型鑑定，目前已發現兩千五百多種血清型。沙門氏桿菌是重要的人畜共通傳染病原，除了在世界各地人類與動物間造成疾病及經濟損失外，近年來也因其抗藥性問題越趨嚴重而備受關注。許多研究證實在經濟動物藉由食物鏈傳播病原的途徑中，以食入受污染的家禽類製品最常見的感染途徑。家禽是沙門氏桿菌的自然宿主，除了 *S. Gallinarum* 與 *S. Pullorum* 等少部分的血清型會造成臨床徵狀外，因感染其他種血清型時常呈現不顯性感染，故易於禽場間被忽略，因此過去在改善禽類感染沙門氏桿菌的措施中以屠宰場的管控等措施是最早被採納的防治重點。

研究證實沙門氏桿菌可藉由垂直傳播 (vertical transmission) 感染子代，並經常於飼育或屠宰時藉由水平方式互相污染傳播，預防措施應全面性地串聯蛋雞、種雞，以及肉雞之養殖層面，並藉由良好的屠宰衛生、食品衛生處理，使達成食品安全之最終目的。飼育期間的污染防治在過去經常仰賴抗生素的使用，然而使用抗生素所衍生的多重抗藥性菌株問題對家禽業之危害甚大；進行區域性家禽場之風險因子調查可獲得該區域最適切之飼養管理重點以提升預防污染之效益，可減少以參考標準來決定防疫重點時在衡量支出成本的考量下難以兩全之缺憾。

此外，近年來動物飼料的安全性在國際間逐漸獲得重視，即使部分報告指出飼料成品污染沙門氏桿菌之現象並不嚴重，但飼料成份的污染卻是常見的，且要藉由飼料製程完全滅除病原確實是目前尚無法克服的問題。在波蘭與英國的調查已發現飼料中污染 *S. Typhimurium* DT104 等具多重抗藥性的菌株的現象 (Davies and Wray 1997; Wasyl, Sandvang et al. 2006)，遭高抗藥性菌株污染的飼料一旦進入飼養環境，以直接攝食與間接污染環境途徑快速散播，將對於禽場的疾病治療造成窒礙，也會對於公共衛生將形成極大的威脅，故建立適用於飼料採樣與檢測方法以了解飼料之實際污染情形或控制方法之效果，實為目前首要的工作。

## 第二章 文獻回顧

### 第一節 沙門氏桿菌之研究背景

#### 2-1.1 沙門氏桿菌症與宿主特異性

無論溫血或冷血動物皆可作為沙門氏桿菌之自然宿主，動物經常呈現不顯性感染 (subclinical infection)，而人類感染沙門氏桿菌症之途徑經常是透過吃下受污染的禽畜肉品所造成；食入受污染的家禽食品被認為是人類感染最重要的途徑，根據荷蘭自 1990 年至 2006 間大規模監測調查即證實有超過 50 % 臨床病患之分離株屬於家禽源的感染 (Valkenburgh *et al.*, 2007)。

學者曾提出會影響家禽對沙門氏桿菌感受性之因子至少包括以下八種：(1) 禽鳥年齡；(2) 禽鳥是否受到環境、運輸或疾病所造成的緊迫；(3) 宿主基因遺傳背景；(4) 感染之血清型別與感染劑量；(5) 菌體與其他腸內菌叢的生長競爭的情況；(6) 菌體經過胃低 pH 值環境後的存活能力；(7) 菌體是否存在於適合生長之環境；(8) 飼料的添加物，如抗菌劑與抗球蟲藥等 (Foley, Lynne *et al.* 2007)。

部分血清型因僅於特定動物種別造成疾病或具有高分離率，因此被認為具有宿主特異性之特質；像是在人類引起傷寒熱的 *S. Typhi*、引起副傷寒熱 (paratyphoid fever) 的 *S. Paratyphi A*、*S. Schottmuelleri*；分別在家禽引起雛白痢 (pullorum disease) 與家禽傷寒 (fowl typhoid) 的 *S. Pullorum*、*S. Gallinarum*；經常在牛隻分離到的 *S. Dublin*、在豬分離到的 *S. Choleraesuis* 與 *S. Typhisuis* 等 (Quinn P.J., *et al.*, 1994)。

#### 2-1.2 沙門氏桿菌之毒力因子與致病特性

致病機制之探討為近年來沙門氏桿菌研究的趨勢，毒力因子之研究被認為可能是開發更適用之控制預防工具相當重要的基石。目前在沙門氏桿菌毒力因子的研究中尤

其以毒性質體 (virulence plasmid)、毒力島 (pathogenicity islands) 與線毛 (fimbriae or pili) 之討論較為廣泛，以下簡介這三種毒力因子：

### (1) 毒性質體 (Virulence plasmid)

學者推測毒性質體與全身性感染時沙門氏桿菌大量增殖有關，目前發現具有毒性質體之血清型包括 *S. Typhimurium*、*S. Enteritidis*、*S. Gallinarum*、*S. Pullorum*、*S. Dublin*、*S. Choleraesuis* 與 *S. Abortusovis*，但值得注意的是這些血清型的菌株並非都一定具有毒性質體 (van Asten and van Dijk, 2005)。

### (2) 毒力島 (Pathogenicity Islands ; pais)

是具有較大分子量的染色體DNA片段，亦稱疾病島；此DNA片段經常位於細菌染色體的tRNA基因點內或附近，或位於與噬菌體整合有關的位點。毒力島的DNA片段所含的G+C composition往往明顯的高於或低於宿主細胞，且其基因產物多屬於分泌性蛋白與細胞表面蛋白，像是溶血素、血紅素結合因子等 (Amavisit, Lightfoot et al. 2003)。

### (3) 線毛 (fimbriae ; pili)

線毛存在於大多數的革蘭氏陰性菌及少數的革蘭氏陽性菌，大小介於7.5-10 nm x 0.5-6 nm之間。線毛的主體蛋白稱為fimbrins，而依功能性可以將線毛分為體毛 (short attachment pili) 與性毛 (long conjugation pili ; F pili)；體毛在細菌外圍呈現短毛狀，數量明顯多於性毛，負責協助細菌黏附於宿主的上皮細胞；而性毛則具有形狀較長的珠鍊狀外觀，負責進行菌體間的接合生殖。沙門氏桿菌的線毛大小為2-8 nm x 0.5-10 nm，利用線毛分子具有免疫原之特質製備疫苗之可行性受到關注 (Jones and Bartlett, 2001)。

## 不同血清型間毒力因子之研究

不同的毒力因子在不同血清型間所扮演的角色可能具有差異，以下針對近年來在家禽與人類間特別受到重視或新興起的血清型：*S. Typhimurium*、*S. Enteritidis*、*S. Heidelberg*、*S. Montevideo*、*S. Schwarzengrund*簡介其毒力因子之研究：

### (a) *Salmonella Typhimurium* (ST)

*S. Typhimurium*是目前最被重視的血清型之一，不僅為最常造成人類沙門氏桿菌症的血清型，在家禽也經常是分離率最高的血清型 (CDC, 2006a)。在美國FoodNet一項長達四年的回顧性調查發現因感染沙門氏桿菌症死亡的病患中近半數都是感染此血清型，故學者推測 *S. Typhimurium*不僅具較其他種血清型更優勢的生長能力外，於致病性亦有特殊之處 (Kennedy, Villar et al. 2004)。目前已發現 *S. Typhimurium*含有多重毒力因子，包括毒性質體與毒力島，這些毒力因子被認為與 *S. Typhimurium* 能夠有效的侵犯並在腸道增殖有關 (Foley and Lynne 2007)。

約有88 %的 *S. Typhimurium*具有一個大小約60 MDa的質體，且當菌體為粗糙型 (roughly form) 時此質體大小為90 kb。此質體被賦予許多名稱，像是pSLT、MP10、pRQ28、pSTV、cryptic plasmid以及毒性質體 (virulence plasmid)，其中以毒性質體為最廣泛使用的名稱。多數學者推測毒性質體與全身性感染時細菌大量增殖有關，而此機制也被認為與*spv*基因有關；*spv*基因可轉譯出約8 kb長度的毒性質體，並且使*S. Typhimurium*可於腸道以外的臟器，尤其肝、脾進行增殖。(Ahmer, Tran et al. 1999)。

毒力島 (pathogenicity islands) 是*S. Typhimurium*另一個備受關注的毒力因子。目前在*S. Typhimurium*所發現的毒力島至少有五種，包含SPI-1、SPI-2、SPI-3、SPI-4與SPI-5。SPI-1為大小約40 kb的chromosomal locus，為沙門氏桿菌侵略宿主上皮細胞所必須，且可誘導巨噬細胞的細胞凋零 (apoptosis) (Collazo and Galan 1997)；SPI-2鄰近 tRNA<sup>val</sup> gene，跟沙門氏桿菌於巨噬細胞中增殖、造成全身性感染有關 (Shea, Hensel et al. 1996)；SPI-3包含十個基因，是沙門氏桿菌在巨噬細胞內存活與適應低鎂離子環境所必須；SPI-4包含18個基因，被懷疑是沙門氏桿菌存活於巨噬細胞所必須

(Blanc-Potard, Solomon et al. 1999)；SPI-5包含了六個基因，其中四個基因被認為與造成小牛的腸炎有關 (Wood, Jones et al. 1998)。

目前毒力島的相關研究以SPI-1與SPI-2較多，學者也發現了這兩種毒力島間可作用之宿主生理環境於不同沙門氏桿菌生長期間有極大差異，例如SPI-1易於低氧、高滲透壓環境下且沙門氏桿菌處於指數生長期 (log growth phase) 之早期時，呈現活躍表現的狀態；SPI-2則較為活躍在缺乏磷酸、低鎂離子或低鈣離子的環境且沙門氏桿菌處於指數生長期 (logarithmic growth phase) 之後期至平原期間 (stationary growth phase)。

對應以上環境條件，研究亦發現當同時帶有SPI-1與SPI-2的沙門氏桿菌處於宿主的生理條件下時基因表現量呈現差異，例如在低氧與高滲透壓的腸道時，SPI-1的基因表現量遠大於SPI-2；而在鎂離子與磷酸量低的宿主細胞內，SPI-2的基因表現量則遠大於SPI-1 (Hansen-Wester and Hensel 2001)。

#### (b) *Salmonella* Enteritidis (SE)

在歐洲，*S. Enteritidis*是最常造成人類沙門氏桿菌症的血清型，於美國則僅次於*S. Typhimurium*位居第二 (CDC.2006a; (de Jong and Ekdahl 2006)。在英國，*S. Enteritidis*盛行率的消長有明顯的改變，在1981年造成10,000件病例，佔總沙門氏桿菌症的10%；而到了1997年時則造成33,000件病例，佔總沙門氏桿菌症的70% (Cogan and Humphrey 2003)。

*S. Enteritidis*因具有多種不同的毒力因子而影響其致病性甚巨，較特別的是利用多種不同的線毛 (fimbriae) 來攻擊宿主細胞。目前在沙門氏桿菌所發現的線毛至少有12種以上，而在*S. Enteritidis*已發現的線毛種類至少包括SEF14、SEF17、SEF18、SEF21，以及由 *lpf* 基因所調控的long polar fimbriae與由 *pef* 基因調控之plasmid encoded fimbriae等。以SEF14為例，線毛的命名方法為SEF代表 *Salmonellae* Enteritidis Fimbriae的縮寫，而其後的數字則代表fimbrin monomer的長度，14代表14000  $M_r$  (Muller, Collinson et al. 1991)。SEF14型的線毛只存在於沙門氏桿菌的體抗原D1血清

群，對於黏附在宿主的組織細胞與生殖道極為重要 (Turcotte and Woodward 1993)。

### (c) *Salmonella* Heidelberg

*S. Heidelberg*是近年美國人類臨床分離率第四位的血清型，在豬隻與家禽的分離率皆為前三名 (CDC, 2006)。在過去此血清型幾乎都是從雞胸肉與碎火雞肉分離到 (Zhao, McDermott et al. 2006)。

目前美國每年平均會有84,000名感染 *S. Heidelberg*的病例發生，其中約有7 %的病患因此死亡，其致死率僅次於 *S. Typhimurium* (Kennedy, Villar et al. 2004)。學者認為該血清型傳染到人類時毒性有增強的情形，且人類感染時經常是以集體感染的方式發生，像美國從1973年到2001年間發生的沙門氏桿菌症疫情共2,260件，其中感染該血清型的案件共184件 (8%)，且污染源通常是家禽製品與蛋品 (Chittick, Sulka et al. 2006)。

長年來的監控調查發現在1990年代中期 *S. Enteritidis*盛行率減少的同時 *S. Heidelberg*卻有明顯增加的現象，故學者推論這兩個血清型間具有相似的致病機制，並且都具有感染家禽的生殖系統並侵入雞蛋的侵略性 (Gast, Guard-Bouldin et al. 2005)。

### (d) *Salmonella* Montevideo

*S. Montevideo*屬於體抗原C1血清群，在過去經常是分離自冷盤食品、牛肉與家禽，在食品製程中經常藉由交叉污染散播，有一些疫情的爆發則被發現於芝麻、巧克力與蕃茄等 (Hedberg, Angulo et al. 1999)；此外，*S. Montevideo* 也被發現具有可侵入蛋黃的能力，因此對於蛋品污染的可能性亦應有所防範 (Murase, Fujimoto et al. 2006)。此血清型也在幾次突發的疫情發現是藉由接觸禽鳥動物感染，尤其在復活節時與幼雞幼鴨的接觸；為了預防類似的疫情一再發生，美國部分州郡甚至立法限制購買鳥禽數量並公開勸導民眾不要飼養這類寵物 (2007)。



### (e) *Salmonella* Schwarzengrund

美國自1996至1999年間FoodNet調查顯示該血清型被認為是繼 *S. Typhi*、*S. Dublin*、*S. Paratyphi A* 與 *S. Choleraesuis*之後，名列第五大具侵犯性的血清型 (Vugia, Samuel et al. 2004)。該血清型在動物主要分離自禽類與豬隻 (Limawongpranee, Hayashidani et al. 1999; Vugia, Samuel et al. 2004; Chen, Wang et al. 2006)，而在家禽的分離率一般約5至10% 之間 (Poppe, Irwin et al. 1991; Poppe, Irwin et al. 1991); 而無論在經濟動物、食品甚至是病患臨床分離株都有嚴重的多重抗藥性問題 (Zhao, McDermott et al. 2006; Aarestrup, Hendriksen et al. 2007)。於臺灣病患之沙門氏桿菌分離株中佔了7.5% (60/798)，且對於nalidixic acid與ciprofloxacin等fluoroquinolone類藥物具高抗藥性趨勢 (Lauderdale, Aarestrup et al. 2006)。



### 2-1.3 臺灣地區沙門氏桿菌之流行病學調查

#### (一) 經濟動物

食入受污染的禽畜製品是人類感染沙門氏桿菌最常見的途徑，基於血清型別間具有宿主特異性 (host specific)、飼育與食品製造過程中可能發生連續性的交叉污染等因素，分離株之血清型常呈現複雜且相異的分佈情形，像是在白肉雞最常見的血清型是 *S. Albany*、*S. Enteritidis*、*S. Schwarzengrund*，自蛋雞分離的血清型則以 *S. Enteritidis* 為最多 (蔡, 2007)，鴨隻以 *S. Potsdam*、*S. Dusseldorf*、*S. Indiana* 最常見 (Tsai and Hsiang 2005)；仿土雞於屠宰場是以 *S. Schwarzengrund* 為主，而在傳統市場分離到的血清型則以 *S. Albany* 為主 (郭, 2006)。

前人研究顯示健康豬隻分離株最常見的血清型是 *S. London*、*S. Panama*、*S. Typhimurium* (Hummel, Su et al. 1978)，而豬隻屠體最常見的血清型是 *S. Derby*、*S. Anatum*、*S. Typhimurium*、*S. Schwarzengrund* (Chen, Wang et al. 2006)，而自豬場糞便、

堆肥場半成品（未完成發酵）及成品（完成發酵）堆肥、超市和傳統市場的豬肝分離最常見的血清型則是 *S. Derby*、*S. Agona* 和 *S. Albany* (李，2006)。

於屠宰場之調查結果顯示具有宿主特異性之血清型其實不常自屠宰場分離，例如 2000 至 2003 年間於臺灣各地區豬、雞、牛屠宰場的調查即發現 *S. Choleraesuis* 實際在豬隻屠體分離株中僅佔少數，而可藉蛋傳播之 *S. Enteritidis* 則未自雞隻屠體分離到，而於牛隻可能為潛在帶原或造成流產、仔牛腦膜炎、骨髓炎 (osteomyelitis) 之 *S. Dublin* 亦未分離到，且在牛隻屠宰場連續四年的監控中也沒有分離到任何沙門氏桿菌；整體而言於屠宰場最常分離到之血清型依序為 *S. Derby*、*S. Anatum*、*S. Schwarzengrund*、*S. Typhimurium*，其中 *S. Derby* 及 *S. Anatum* 這兩種血清型只有在豬隻屠體被分離到 (王，2004)；以上結果說明操作與環境之交叉汙染源實為屠宰線重要的危害管制點。



## (二) 伴侶動物

而隨著社會結構老年化且少子化的趨勢與動物福利觀念的進步，人們對於伴侶動物的需求與互動皆有增加的趨勢。犬貓動物與爬蟲類是沙門氏桿菌常見的帶原者，易藉由與畜主共用生活環境或親密接觸而傳播病原並污染居家環境，實為極易受忽略的污染源，因此美國疾病管制局已明確的指出並教育宣導伴侶動物為人類感染沙門氏桿菌等人畜共通傳染病原的主要來源之一。近年來在臺灣地區針對家犬與流浪犬的沙門氏桿菌分離調查發現在不同地區具有相異的血清型別分佈；北部最常見之血清型為 *S. Duesseldorf*、*S. Enteritidis*、*S. Derby* (Tsai, Huang et al. 2007)、中部以 *S. Newport*、*S. Enteritidis* 及 *S. Senftenberg* 為主 (廖，2007)，而南部則以 *S. Albany* 及 *S. Newport* 居多 (陳，2007)。

爬蟲類寵物分離株中有 43.9 % 屬於人類常見感染之血清群 (A、B、C、D、E)，並以血清群 B 最多；以動物種類區分則分離率以蛇類最高、蜥蜴類次之，龜鱉類檢出

率則顯著較低 (陳, 2005)。

### (三) 人類臨床分離株調查

早期於 1978-1987 年間的調查發現自臨床病患分離到的血清型多達 43 種，其中最常見的血清型是 *S. Typhimurium* (43.7%)，其次依序為 *S. Muenchen*、*S. Panama*、*S. Krefeld*、*S. Bovismorbificans*、*S. Derby*、*S. Aanatum*、*S. Braenderup* 等 (Peng 1992)；而近年來由國家衛生研究院所執行的全國微生物抗藥性監測計畫 (Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance; TSAR) 分別於 1998 年、2000 年、2002 年間從北中南東四個地區的醫學中心及區域醫院收集住院病人及門急診病人所分離出之菌株，則發現最常分離到的血清型依序為 *S. Typhimurium*、*S. Enteritidis*、*S. Stanley*、*S. Schwarzengrund*、*S. Newport*、*S. Albany*，其中 *S. Typhimurium* 與 *S. Enteritidis* 約占所有分離株 42 % (Lauderdale, Aarestrup et al. 2006)，略低於 2004 至 2006 年間於南部地區的調查中的 55.8 % (陳, 2007)。另外也發現近年來病患分離株對 fluoroquinolone (FQ) 藥物具有高抗藥性的趨勢，尤其以 *S. Choleraesuis* 與 *S. Schwarzengrund* 這兩種血清型最為常見 (Lauderdale, Aarestrup et al. 2006)。

## 第二節 白肉雞污染沙門氏桿菌調查

### 2-2.1 沙門氏桿菌於白肉雞產業之影響與概況

白肉雞由於具有生長快速、高換肉率且飼養期短的優點，是最普遍飼養的肉用雞種，在世界各地皆有相當可觀的消費量，故其沙門氏桿菌污染問題相當值得重視。一般而言白肉雞產業的生產流程經由以不同階段分層進行，首先自白肉雞種雞場配種產蛋後，將受精卵送至孵化場 (hatchery)，待孵育出小雞後於當天將一日齡雛雞分送至各白肉雞場飼育，三到五週齡為雞隻快速生長，飼育期一般約38至42天即達可販售之成熟度，再加上出雞後需有約兩週時間進行清潔消毒與淨空，故平均每批雞的生產包括各批次間的清潔淨空期共約八週為一循環。

家禽飼養生產過程中各管控點就像一條條同源的支流般彼此牽動，一旦其中發生污染，極易快速的水平傳播至整個雞場，再進一步污染增加屠宰線的污染機會，因此家禽污染沙門氏桿菌的問題正如同每年難以估計的家禽產品消費量般，持續的存在於各國的家禽產業。

白肉雞場之沙門氏桿菌盛行率在不同的國家具有相當的差異，例如泰國曾報告有100 % (Sasipreeyajan *et al.*, 1996)、加拿大 76.9% (Chambers *et al.*, 1998)、法國 68.9 % (Rose *et al.*, 1999)、丹麥 25.0 % (Chadfield *et al.*, 2001)、巴西 21.7 % (Tavechio *et al.*, 2002)、芬蘭 0.7 % (Anon., 1998)；不同國家間盛行率有如此大的差異性可能跟不同的衛生條件與設備、飼養管理方式等，以及進行調查時的採檢與檢測方法之差異有關。

### 2-2.2 家禽沙門氏桿菌流行型別之改變與趨勢

雖然沙門氏桿菌有高達二千多種血清型，但是相對而言在臨床病例中絕大多數的血清型極少被分離到，僅少部分優勢的常見於流行病學調查中。國際間經常藉由長期觀察血清型分佈趨勢來瞭解並評估相關控制預防措施的有效性，某些血清型可感染的

宿主範圍非常廣泛或具有重疊的流行性，故過去也經常以動物污染之血清型分佈作為發生少見於人類之血清型疫情且尚未進行親源性分析時初步之來源推論 (Foley and Lynne 2007)。

以美國為例，1990 年代初期 *Salmonellae Pullorum* 為美國家禽場最常見的血清型，並因此引起的疾病造成極大的經濟損失，然而在美國政府自 1935 年開始施行 National Poultry Improvement Plan (NPIP) 制度後，1960 年代後 *S. Pullorum* 之盛行率已明顯下降，顯示其污染獲得相的控制；然而同時 *S. Enteritidis* 盛行率則有明顯上升的趨勢 (Shivaprasad, 2003; USDA, 1997)。此現象促使學者思考這兩個血清型別間交替盛行之原由，因為在 1960 年前 *S. Enteritidis* 是很少自雞隻分離的。

由於這兩個血清型皆屬於體抗原 D1 血清群，故細胞壁具有相似的脂多醣構造，學者認為基於類似構造的生態學基礎而導致兩血清型於家禽間生長競爭 (Gupta, Maiden et al. 1996; Velge, Cloeckart et al. 2005)，因此當 *S. Pullorum* 在家禽被大量抑制後 *S. Enteritidis* 便成為優勢血清型，因而取代 *S. Pullorum* 而有高盛行率的現象 (Rabsch, Hargis et al. 2000)，成為當時歐美地區最常見的血清型 (Velge et al., 2005)

而到了 1990 年代中期，美國的 *S. Enteritidis* 盛行率出現減少的趨勢，尤其從 1995 至 2004 年這十年間其盛行率減少了 50%；學者認為這可能與美國自 1989 年與 1994 年分別在 NPIP 中開始針對該血清型於蛋品與肉品的預防管制措施得到相當成效有關；而在英國，該血清型的減少則被認為跟蛋雞施打 *S. Enteritidis* 疫苗有關 (Baumler, Hargis et al. 2000; Cogan and Humphrey 2003)。

當美國 *S. Enteritidis* 的污染趨緩後，*S. Heidelberg* 出現新興流行趨勢，且 *S. Heidelberg* 與 *S. Enteritidis* 一樣可於家禽生殖系統增殖，並具有侵入蛋黃的能力 (Gast, Guard-Bouldin et al. 2004)，而在之後的流行病學調查也顯示這兩個血清型之消長情形亦呈現顛抗情形 (Foley, Lynne et al. 2007)。

雖然目前已知的血清型高達 2500 種以上，但是不同的血清型在不同動物間的盛行率與致病性有很大的差異，血清型別流行性的起伏消長的資訊與其中演化的因果關係尚更進一步的研究。

於白肉雞所流行的血清型於不同的國家不盡相同。荷蘭 2001 至 2006 年間最常見的血清型是 *S. Java* (31~51.7%) 與 *S. Infantis* (13~16.4%) (Valkenburgh *et al.*, 2007); 在韓國白肉雞最常分離的血清型是 *S. blockley*、*S. Seftenberg* (Cheong *et al.*, 2007), 而近年來 *S. Enteritidis* 與 *S. Typhimurium* 之白肉雞分離株被確認與沙門氏桿菌症病患之分離株有相似的脈衝式電泳型別表現 (PFGE profile), 因而認為該國白肉雞為人類感染這兩個血清型最主要的污染源 (Kim *et al.*, 2007)。

而在參考各國文獻後發現近年來 *S. Infantis* 逐漸受到重視, 此血清型是荷蘭第二常於白肉雞分離之血清型 (Valkenburgh *et al.*, 2007), 日本自 1990 年後分離率快速增加, 所造成之人類沙門氏桿菌症於 2004 至 2005 年間僅次於 SE (Asai *et al.*, 2007)。而在匈牙利也發現, 自從開始使用 ST 與 SE 的疫苗後, *S. Infantis* 不僅成為家禽最常見的血清型, 同時也成為第三種最常感染人類的血清型, 在近年更衍生了多重抗藥性菌株的問題 (Nogrady *et al.*, 2007)。



### 2-2.3 各國白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子調查概況

家禽場的污染防禦策略需建立在飼養管理與衛生條件的基礎上, 然而不同國家、地區, 甚至在各個雞場間的生產條件都有相當程度的差異, 因此針對各別區域進行白肉雞場沙門氏桿菌污染之風險因子調查是必須的。下面將分別以丹麥與塞內加爾進行之白肉雞場沙門氏桿菌污染風險因子調查為例, 介紹風險因子之研究方法與調查結果, 並進一步介紹其他重要但常被忽略的風險因子, 以及在白肉雞較具重要性的沙門氏桿菌血清型。

#### (一) 丹麥白肉雞場之風險因子調查

自 1990 年代起, 丹麥感染沙門氏桿菌症的患者有明顯增加的趨勢, 且被認為與家禽及家禽製品有極大關連性。丹麥的家禽製程是非常明顯的分層作業, 每個層級皆

以非常嚴格的控管以避免沙門氏桿菌水平傳播污染的發生，例如丹麥家禽議會

(Danish Poultry Council) 自 1989 年開始推動一個鼓勵雞農減少沙門氏桿菌在肉雞污染的措施，並分別對於種雞、孵化場、肉雞以及屠宰場與飼料廠進行沙門氏桿菌的監測。而在白肉雞的生產方面，雖然在該國境內有兩間種雞場，但大多直接自英國進口一日齡小雞來飼養。普遍來說平均每個雞場約飼養三萬隻雞，每個雞舍每年約育成六至七批雞，境內共有十一個白肉雞屠宰場，平均屠宰日齡為 37 天 (Angen *et al.*, 1996)。

調查方法為自 1992 年二月至 1993 年十二月間共採樣 5921 場，各場相關飼育資料採集自丹麥家禽議會。以盛行率 20 % 以上，有 95 % 的機會可採集到一個陽性檢體的條件下，於每個雞場逢機採集 16 個三週齡的白肉雞盲腸扁桃結 (caecal tonsils) 檢體，每兩個檢體混合在一起，故每場共有八個檢體進行沙門氏桿菌檢測。值得注意的是風險因子調查之採樣方法因應學者的研究結果而有了調整與改變，像是在 1994 年後改以採取每場 60 個糞便檢體，且每 12 個混合成一份檢測單位的方式來進行沙門氏桿菌分離，學者認為這樣的採樣較簡單且可提高檢測的敏感度；而後又在 1997 年改以採取雞農在雞場內走動後的鞋套 60 份，同樣的將每 12 雙鞋套混合成一個檢體的方式進行檢測，根據前人的研究報告顯示此採檢方法的敏感度與採糞便相當，但是更為方便 (Skov *et al.*, 1999; Angen *et al.*, 1996)。

調查結果發現在丹麥肉雞場，有四個風險因子對於感染沙門氏桿菌的影響性皆達統計學意義 ( $p < 0.05$ )。這四個風險因子分別是飼料廠、前批雞隻是否感染沙門氏桿菌、季節性、每個雞場內的雞舍數量，下面詳加解釋各因子之統計結果：

- (1) 飼料廠的規模大小對於飼料之加熱處理是否確實與其所造成的交叉感染機會有相當的影響，生產量越大的飼料廠越容易發生有上述的問題，因此有較高的污染風險。
- (2) 前批雞隻若感染沙門氏桿菌，將容易污染飼育環境而造成下批雞隻的感染，此部分同時與清潔消毒步驟與淨空是否確實，有顯著的交互作用。
- (3) 季節性在丹麥是相當重要的一個風險因子，尤其在高濕氣並寒冷的秋天（九至十一月），且該因子與飼料廠及雞場內的雞舍數也具有交互作用。濕氣與低

溫將影響雞舍在清潔、消毒與乾燥時的效果，而在飼料廠則是對於飼料加熱的溫度與溼度，以及飼料儲存時的品質有直接的影響。而在雞舍數量較多的雞場，也可能因此增加清潔消毒工作之困難性與交叉感染的可能性，增加了污染的機會。

- (4) 雞場內雞舍的數目，尤其是雞舍數大於三個的雞場，將會增加其雞舍間的互相污染的機率。這是由於較大的雞舍數量也可能會導致工作人員的工作量較大，而在進行清潔與消毒時容易發生工作時間被縮短或效果打折的情形。而在飼養上，多雞舍數也較難做到統進統出的飼育方式，而增加了污染沙門氏桿菌的機會 (Angen *et al.*, 1996)。

## (二) SE8 與 ST66 於丹麥白肉雞場之風險因子調查

有別於以上所進行的一般性風險因子調查，下面介紹一個當發生特定型別之菌株爆發群體感染疫情時，為釐清並快速尋求現場有效減少互相傳播污染之飼養條件與方法時，所進行的風險因子分析調查 (Gradel & Rattenborg, 2003)。

此案例發生於 1997 年，在丹麥發現有 42 個白肉雞場的 78 個雞舍感染了 *S. Enteritidis* phage type 8 (SE8) 或 *S. Typhimurium* phage type 66 (ST66)，而 78 個雞舍中，有 38 個雞舍感染 SE8、34 個感染 ST66，屬於單一感染，另外 6 個雞舍為 SE8 合併 ST66 之多重感染。

由於這兩種型別之沙門氏桿菌株以往並不曾於丹麥的白肉雞分離到過，且在該國境內的白肉雞場從未有如此高的沙門氏桿菌感染情形，為了快速釐清可能的污染源並找到最好的現場控制病原散播方法，故針對這些感染場進行風險因子調查。在這個案例中，以病例對照研究 (case control study，追溯性研究 retrospective field study) 進行調查，除了參考丹麥家禽議會 (Danish Poultry Council) 所建立的基本雞場資料外，也另外設計問卷請雞場人員填寫，以期能更詳盡的瞭解這些雞舍的管理作業方式，並於這些感染的雞場在雞隻三週齡時，採取鞋套檢體來進行檢測。

經過風險因子的調查與分析後，首先發現這些爆發疫情的雞場之雞隻皆來自同一



個孵卵場，而風險分析的調查認為下面的風險因子在這些感染場中，對於病原的傳播扮演了高度的重要性：

- (1) 進入雞舍前使用清潔劑與水清潔雙手後才進入雞舍，將可有效減少沙門氏桿菌間接污染的情形。
- (2) 處理死掉的雞隻時，以加蓋的容器覆載並自雞舍移除，可減少病原滋生傳播。
- (3) 在雞舍四周圍鋪上細碎石頭 (gravel)，可減少病媒傳播。
- (4) 經常性的確認室內的捕鼠餌置放處 (rodent-bait depots) 是否抓到老鼠。

### (三) 塞內加爾 (Senegal) 白肉雞場之風險因子調查

塞內加爾位於西非，並如同一般的非洲國家，境內有相當多的愛滋病患者。由於愛滋病患者免疫力缺失將導致在感染沙門氏桿菌時容易發生嚴重的菌血症致死，故感染沙門氏桿菌在該區域將導致遠較於一般已開發國家嚴重的後果。

本研究由法國學者赴當地進行，於 2000 年 1 月至 2001 年 12 月間共調查 70 個白肉雞場。在進行調查前會先拜訪雞農，解釋此調查之進行方法與目的，在得到雞農自願性的允諾配合後使得以開始進行調查，並先擬定問卷調查內容，請 15 位雞農試寫並提供意見，最後完成兩份共包含 80 個問題，預計可於 30 分鐘內完成之問卷。問卷設計包含以下七大主題：(1) 雞場與雞舍間之差異性；(2) 一日齡雛雞之相關背景資料；(3) 病雞與死雞的處理方式、管理措施；(4) 老鼠與畜養之寵物的管理控制；(5) 飼料與飲水的來源與管理；(6) 雞場工作人員與訪客之管理；(7) 清潔與消毒之程序。

此調查進行期間共拜訪每個調查場四次，時間點分別為：(1) 先選定一場次的雞舍後，在該場次之前一批雞已養成且即將送至屠宰場之前 (previous flock)；(2) 前批雞已出雞，且雞舍完成清潔消毒程序後；(3) 新一批雞入雞當天 (day-old chicks)；(4) 新一批雞於飼養之尾聲，約第 32 至 40 日齡時 (end of rearing period)。於第二次與第四次拜訪時進行問卷調查，並於第一、三、四次拜訪時進行採樣。採樣方法乃是採取每個檢測場內新鮮的排遺，將五個檢體混合成一份，共採集 60 份檢體。此檢測數目乃是根據當盛行率大於 5% 時，在 95% 可信度水準下至少能檢出一個陽性檢體所需的檢體數。

調查結果發現大多數的經營者將雞場當成副業來經營，且這些雞場之雞舍型態皆為開放式的（open-side house）無風扇等通風設備，最常使用的墊料是木屑，使用自歐洲或巴西進口包括玉米、花生餅（peanut cake）等飼料成份後於該國境內製造的飼料。而在醫療行為上，普遍常規性地施打新城病（Newcastle disease）與傳染性華氏囊病（Gumboro disease）疫苗，並治療球蟲。

沙門氏桿菌的分離結果為場陽性率 28.6%，最常分離到的血清型為 *S. Hadar* 與 *S. Brancaster*。而這兩個在白肉雞場最常見的血清型在該國後續的調查中也被確認了白肉雞分離株與人類沙門氏症病患分離株具有相似的脈衝式電泳分型結果（Cardinale *et al.*, 2005）。而在風險因子分析的部分，共發現了四種會顯著增加感染沙門氏桿菌風險的因子，分別是：

- (1) 當前一批雞隻感染沙門氏桿菌時，下一批雞感染的機率顯著提高。此部分與前批雞隻屠宰前，進下批雞之前的環境清潔與消毒工作具有相當的交互作用（interaction）。
- (2) 當一日齡雛雞感染沙門氏桿菌時，會增加該場感染的風險；當雞舍內有感染雞隻的存在時容易污染環境，藉由水平傳播快速散播病原。
- (3) 雞場有頻繁的訪客時將增加感染的風險，除了訪客可能攜帶外來的沙門氏桿菌入場外，其衛生管理往往也較難以控制。
- (4) 若病雞未移除至雞場外，易於雞場內形成傳染窩散佈病原，增加污染風險。
- (5) 本調查認為於一日齡雛雞使用抗生素以及在雞場中以消毒劑進行清潔，將可減少賽內加爾之雞場內沙門氏桿菌污染風險（Cardinale, *et al.*, 2004）。

## 2-2.4 其他值得注意之風險因子

由於風險因子的調查需要對於該產業之製程有相當的瞭解，方得以在各個細微的過程步驟中詳列舉可能影響的因子，再藉由病原的檢測結果配合統計分析的方式來確認該因子對於所調查的對象或群體的感染是否具有顯著的影響，因此在參考相當的文獻後，在此特地列舉兩個容易被忽略但卻可能重要的因子：輸送一日齡雛雞之運輸木箱及野鳥。

輸送一日齡雛雞之木箱由於成本考量而經常重複使用，故易於不同批雛雞間造成交叉污染。研究也發現即使是非頻繁的重複使用輸送木箱仍有藉此途徑傳播沙門氏桿菌與彎曲桿菌之可能性，因此當基於成本考量而必須重複使用木箱時，建議在使用前以消毒劑徹底清潔 (Slader *et al.*, 2002)。

前人調查雞場附近的野鳥帶有病原菌的情形，結果發現沙門氏桿菌在排遺檢測出之陽性率於不同雞場間約 0~33 % 之間 (Craven *et al.*, 2000)，因此雞場附近的野鳥被認為有污染環境、造成雞群感染的可能性。因此雞舍應避免與野鳥接觸，可以適當孔徑之鐵網隔離野鳥與家禽，避免暴露於交互傳染的風險中。

## 第三節 家禽飼料污染沙門氏桿菌之調查與防治方法

### 2-3.1 各國的流行病學調查

#### (一) 瑞典

在瑞典，無論是動物或飼料中一旦檢出沙門氏桿菌，皆必須送往國家檢測單位進行血清型鑑定與抗生素感受性試驗，且 *S. Typhimurium* 與 *S. Enteritidis* 皆必須進一步進行噬菌體分型 (phage type)。

並且自1991年起對於飼料場進行以HACCP為基礎的風險因子管控作業，其重要管控點主要在於環境以及製程中所產生的灰塵與碎屑，採樣方法為每週於各飼料廠最少採取五個樣品進行檢驗，若同一地點單位在多次採樣皆分離到相同血清型及噬菌體型別，則僅採計第一次分離的結果。

瑞典農業部在1993至1997年間飼料廠對於四大種類的檢體，包括不同的飼料成份（包含植物性、動物性及未分類）、飼料成品、在飼料廠收集到的灰塵及碎屑及難以分類的飼料廠檢體來進行採檢，共分離到957株沙門氏桿菌。檢測結果發現動物性原料共分離到28株沙門氏桿菌，植物性原料則有194株，顯示該國植物性原料污染情形較動物源嚴重。最常見的血清型是 *S. Senftenberg*、*S. Mbandaka*、*S. Agona*、*S. Anatum* 與 *S. Cubana*，而最常受污染的植物性原料種類則為大豆粉、玉米及油菜籽。此外，在飼料廠收集到的灰塵及碎屑共分離到464株沙門氏桿菌（48.3%，464/957）為四類檢體中分離率最高的檢體種類 (Boqvist, Hansson et al. 2003)，顯示飼料廠應重視廠內環境粉塵之清除是否確實，並盡量減少製程中所發生的粉塵量。

另外值得注意的是在進行調查的這段期間最常從動物性原料分離到的血清型 *S. Livingstone* (9.8%) 不僅是首度於飼料分離到，且此血清型於1994年間經常可從該國蛋雞 (59.3%) 分離到，藉由PFGE (pulse-field gel electrophoresis) 分型結果，有學者懷疑是藉由飼料污染雞隻的實例 (Eriksson, Lofstrom et al. 2005)。

分離結果並顯示一些較常從同時期瑞典境內動物分離到的血清型，像是 *S. Typhimurium*、*S. Enteritidis* 與 *S. Dublin* 等則並不常從飼料中被分離到，因此學者認

為瑞典境內動物所發生的沙門氏桿菌污染除了 *S. Livingstone* 這個血清型外，似乎與飼料源較無相關性。

## (二) 荷蘭

在 1990 年七月至 1991 年四月間對於三種飼料成品：火雞飼料（包括第一期、第二期及第三期料）、蛋雞料及鴨飼料，以及四種飼料原料包括魚粉、肉骨粉、樹薯粉及玉米進行檢測，並分別比較粉狀及粒狀飼料之沙門氏桿菌污染率。

結果發現三種飼料共分離出 20 種血清型，總分離率約為 10 % (34/360)，本調查中粉狀飼料之沙門氏桿菌陽性率為 21.4 % (31/145)，粒狀飼料之陽性率為 1.4 % (3/215)，此結果與前人研究認為飼料製程中打粒的加熱步驟可以減少細菌污染的論點相符 (Veldman, Vahl et al. 1995)。而三種飼料種類中以蛋雞陽性率最高 (21 % ; 32/156)，這個結果被認為可能跟此研究中蛋雞飼料多屬粉狀料有關。

四種飼料原料共分離出 16 種血清型，總分離率為 17% ，其中以魚粉分離率最高 31 % (40/130)，玉米粉 27 % 次之(4/15)。這個結果再次呼應沙門氏桿菌的污染並非完全以動物性成份為主，事實上植物性成分的污染亦是不可輕忽。

而本調查中，飼料原料與成品共分離到 28 種血清型，然而原料與成品兩者間的血清型分佈並沒有明顯的關聯性，顯示在飼料製程中可能有污染發生 (Veldman *et al.*, 1995)。

## (三) 美國

此研究同時對於三個每日飼料總產量為 100,000 至 400,000 公噸的飼料廠進行調查，在春季（四月份）與夏季（八月份）間各採樣兩次，並分別於同一週內的週一、週三及週五進行採樣。採樣地點分別為原料收件集處 (ingredient receiving)、混合槽 (mixer)、打粒廠 (pellet mill)、冷卻槽 (cooler) 及出貨區 (load out)，每個檢體為同批飼料內各採四至五份混合而成，並在採集前測取飼料打粒的溫度。

結果共採得 886 份檢體，檢體種類包含 68 件原料、189 件粉塵及 629 件飼料成品，

飼料成品中有178件未經蒸汽加熱滅菌。此外，除了檢測沙門氏桿菌外並同時進行生菌數測定。

調查結果發現粉狀飼料的陽性率為8.79 % (16/178)，粒狀飼料為4.21 % (19/451)，這個現象再次驗證打粒加熱的過程可以降低飼料污染的菌量，而此調查中粉狀飼料陽性率低於其他國家的調查結果。飼料原料中以玉米、大豆粉、大豆皮渣及小麥等植物性原料在生菌數調查中陽性比例偏高，且也皆有沙門氏桿菌污染，也顯示植物性原料受細菌污染的情形是常在的。

在不同採樣地點的調查結果發現在混合槽檢體受污染的情形顯著的比其他採樣地點嚴重 ( $P < 0.05$ )，而季節差異性調查則發現春季的生菌數含量顯著高於夏季 ( $P < 0.05$ )，但是沙門氏桿菌的污染量則無季節性差異。

此外，不同的工作日（週一、週三、週五）對於飼料污染程度也表現出顯著的差異，週五污染度最高，其次為週一，最低的是週三；此現象推測應與週五的飼料製量為了滿足週末飼料廠停工時農場的需求而必須有較高的生產量，導致在加熱打粒過程中均勻受熱的效果較平日差所致 (Jones and Richardson 2004)。

#### (四) 日本

於1998年一至十二月間在日本東部採集六間飼料廠的蛋雞飼料成品，採集點於載運飼料的卡車從飼料廠到農場貯藏室的途中，共採得檢體4418件。檢測結果發現沙門氏桿菌陽性率為3.3 % (143/4418)，共分離到至少32種血清型，以 *S. Enteritidis*、*S. Livingstone*、*S. Bareilly*及*S. Derby*是較常分離到的血清型，其中分離率最高的*S. Enteritidis* (8.1 %, 18/146) 特別受到注意，因為這個血清型很少從飼料分離到，且一般認為家禽場內的SE感染是以嚙齒類傳播途徑為主，因這個調查結果而被認為飼料是日本蛋雞感染SE重要的污染源。

與其他國家的調查結果相比，此研究認為日本飼料之沙門氏桿菌陽性率是偏低的，學者認為應針對飼料研發更好的檢測方法，並加強飼料的檢測調查使之常規化的進行 (Shirota, Katoh et al. 2000)。

## 2-3.2 飼料工業的防治方法

### 2-3-2.1 飼料製程之危害管制點

危害分析與重點管制計畫 (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP) 是一個預防體系，目的在於以科學方法來控制、預防危害因子，並建立實行措施之標準值。在飼料的預防策略中，包含了飼料原料的監控、飼料在混合加工等生產線之控管，以及運送、儲存過程的管理等 (Billy and Wachsmuth 1997)。

以瑞典為例，其控制計畫包含了基本控制 (basic control)、安全控制 (safety control)、特別控制 (special control) 及相關數據的收集 (data gathering) 等，並於每年秋季根據前一年間的監控結果檢討並進一步擬定或變更控制方法。

安全控制以飼料的營養成份的分析為主，像是礦物質、氨基酸及維生素等；特別控制以對人體、動物及環境可能具危害性的物質，包含了沙門氏桿菌與戴奧辛；特別控制以飼料製程中的空調系統為重點，以加裝過濾網的空調系統來減少室內外流動的氣體相互污染的情形；相關數據收集的部分包含相關買賣商的資料及產品的成份、添加物等資料。在監測的部分，除了瑞典農業部 (Swedish Board of Agriculture) 會進行例行性監測外也接受飼料公司的檢獲沙門氏桿菌陽性之通告案件，菌株統一經農業部接收登記後由國家獸醫研究所 (National Veterinary Institute) 進行確認、血清型分型及抗生素感受性試驗，當有 *S. Typhimurium*、*S. Enteritidis* 菌株時由傳染病控制研究所 (Swedish Institute for Infectious Disease Control) 進行噬菌體分型。

#### 2-3.2.2 其他應用於飼料業之防治措施

目前已發展之防治方法大致分為在飼料中加入添加劑或將飼料成品經特別處理兩個方向；添加劑包括化學添加劑與天然添加劑兩大類，而特別處理則包括加熱法與輻射線照射等。

### (一) 化學添加劑

常見添加的化學物質包括蟻酸 (formic)、氯化氫 (hydrochloric)、硝石 (nitric)、磷 (phosphoric)、丙酸 (propionic acid)、硫酸 (sulphuric acid)、異丙基醇 (isopropyl alcohol)、甲酸鹽 (formate)、丙酸鹽 (propionic salt)與三鈉磷酸鹽 (trisodium phosphate)。目前已知使用含氯水的效果並不好，前人研究指出若要有效消除污染紫花苜蓿種子的 *S. Stanley*，必須使用至少濃度 2 mg/ml 的氯水消毒 (Jaquette et al., 1996)。

上述的化學物質部份有使用及儲存的不便利性以及對環境與工作者健康的影響，並且在飼料混合的過程中無法被確認完全均勻分佈等因素，故此類添加劑目前有被利用自然改變家禽腸內菌叢優勢之緩衝有機酸 (buffered organic acid) 及益生菌所取代的趨勢 (Maciorowski et al., 2004)。

### (二) 其他飼料添加劑

為了改善使用化學性添加劑的缺點，天然添加劑的研發是目前的趨勢，此類添加劑之材料的選擇十分多樣化，下面僅以幾種較常見的種類作一簡述。

益生菌添加劑利用競爭性排除 (competitive exclusion) 原理，建立理想的腸內環境來達到自然具有對抗外來微生物狀態，此類型的添加劑的實驗效果普遍不錯，但是在進行商業化生產時經常遇到困難 (Gaze et al., 2003)。此外，還有一些醣類添加劑，尤其是甘露醣、甘露聚醣 (mammaoligosaccharide) 等，都被證實具有不錯的抑菌效果，但是飼料業普遍因成本過高而難以接受 (David, R., 2002)。

### (三) 加熱處理法

熱處理通常是在打粒 (pelleting) 過程進行，係指將粉狀的飼料混合料以高溫製成粒狀，此溫度一般在 70 至 90 °C。有學者認為打粒的溫度至少要在 83 °C 以上的溫度才可消除沙門氏桿菌，進一步也有學者認為飼料中沙門氏桿菌的滅菌溫度和時間有很大的變異性，這可能跟沙門氏桿菌對熱的抵抗力以及飼料的水份含量有關。

曾有研究以水份含量分別為 5 % 與 15 % 的飼料加入等量 *S. Enteritidis* 後同時以 82.5



°C加熱處理2.2秒，結果發現水份含量為5 %的飼料其含菌量僅下降1.5 log，而水份含量為15 %的飼料則下降了4.5 log (Himathongham *et al.*, 1996)；此外也有研究證實像是丙酸 (propionic acid)等化學添加劑搭配加熱處理可以增加滅菌效果 (Matlho *et al.*, 1997)。

飼料加熱的目的是為了打粒、消除細菌，已知超過90 °C容易變成泥濘狀飼料 (slushy feed)，且過高的溫度會破壞飼料的營養，然而*S. Typhimurium*在含水量低的飼料中經過100 °C 加熱處理60鐘後仍舊存活 (Kirby and Davies, 1990)，說明了期望在飼料製程中單憑加熱法來滅絕沙門氏桿菌並不容易。

#### (四) 輻射線照射法

一般使用的是  $^{60}\text{Co}$  gamma rays，乃是藉由改變細菌的DNA結構的控制方法。研究發現輻射線處理可有效的減少肉品中的*E. coli* O157: H7，並有效減少穀粉、大豆粉、肉骨粉及禽類半成品之病原菌；研究認為飼料經大約15至35 kGy劑量的輻射線照射後可確定為零沙門氏桿菌飼料，而經10至15 kGy劑量的輻射線則可使飼料中沙門氏桿菌的含量減少到可檢測值以下 (Maciorowski *et al.*, 2004)。然而這樣的方法並非萬無一失，例如學者也發現輻射雖然可以有效消除魚粉的病原菌，但是因為無法消除屍氨 (cadaverine) 中的proteolytic enzyme，反而有進一步產生scomboid poison等有毒物質的風險 (Urling *et al.*, 1993)。

## 第三章 材料與方法

### 第一節 北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌調查

#### 3-1.1 試驗設計

自 2008 年 4 月至 2009 年 5 月間，於北臺灣地區包含宜蘭縣、基隆市、臺北縣市、桃園縣、新竹縣市進行採樣，並根據農委會統計室 97 年度第二季與第四季之白肉雞場規模調查，結果皆顯示北臺灣地區 95 % 以上的白肉雞場飼養規模皆落於 10,000 隻以上，故擬定以此規模之雞場進行污染沙門氏桿菌之風險因子調查。

本調查之採樣分作兩階段進行，有鑑於國內外尚未建立雞場風險因子調查之採樣統一標準，故於第一階段先進行前預備試驗來評估最佳採樣時間點與樣本種類後再進行後續採樣調查。前預備試驗共進行 20 場次，於各雞場連續性於四個時間點採取三種檢體類別進行沙門氏桿菌之培養分離。

第二階段根據在前預備試驗得到 70 % 之場陽性結果 (14/20)，依據表一得知大於 10,000 隻飼養規模之雞場數共 144 場次，以符合 10 % 精密度 (10 % precision)、90 % 信賴區間 (90 % confidence interval) 條件下，依據下列公式運算後得知在北臺灣地區白肉雞場風險調查之雞場數量應達 41 場。

$$n = \frac{Npq}{\frac{(N-1)B^2}{Z^2} + pq}$$

n = 需要抽樣的最小牧場樣本數

N = 北臺灣地區白肉雞場數 (> = 10000 隻之雞場飼養規模)

p = 某疾病的牧場盛行率 (在此為 70 %)

q = 1-p (在此為 30 %)

B = 估測誤差的界限 (在此設定為 10 %)

$Z$ =標準常態分布係數 (90 % 可信度時,  $Z = 2.706$ )

為了簡化採樣方法以增加農民配合意願並符合調查成本考量，本調查得到前預備試驗結果後經統計分析評估，選擇以最具分離效益之三個採樣時間點與兩種檢體類別進行後續 21 場次之採樣。亦根據前預備試驗結果之北臺灣地區白肉雞場常見模式修改問卷，試驗設計與流程圖請見圖一。

並因考量臺灣地處亞熱帶，全年為高溫高濕度的氣候條件下易使雞隻發生熱緊迫而增加誘發疾病機會，故於四季溫差較大的北部地區採樣分析增加氣候條件之考量，分別探討溫度與降雨量因子。根據氣象局統計資料將 2008 年 11 至 2009 年 5 月歸類為均溫低於攝氏 25 度的涼季，其餘月份歸類於熱季；雨季與乾季之區別乃統計調查期間之降雨平均值後，將降雨量平均值之月份歸類為雨季，各地降雨量之平均值分別為新竹 152.5 毫米、桃園 178.4 毫米、宜蘭 206.1 毫米。屬於雨季的月份別為新竹 2008 年 4 至 7 月、9 月與 2009 年 3 月；桃園 2008 年 5 至 7 月、9、11 月與 2009 年 2、5 月；宜蘭 2008 年 7 月、9 至 11 月。



### 3-1.2 調查與試驗方法

本研究以病例對照法 (case-control study ; retrospective study) 進行，並根據採樣分離結果與各因子之統計分析判斷各因子是否為影響白肉雞場內沙門氏桿菌污染之風險因子。

#### 3-1.2.1 雞場設施與飼育條件之問卷調查

北臺灣地區飼養的家禽種類以白肉雞為主，白肉雞是最大量生產且消費量最大的肉雞禽種，為了解白肉雞生產過程中不同的飼養條件與階段中易造成沙門氏桿菌污染

之風險因子，於參考文獻與白肉雞場飼養管理手冊後彙整出與白肉雞場生產飼育管理過程之相關因子並設計成一份問卷，藉由問卷調查結果來瞭解在各個調查場內飼養過程中暴露於各因子的情形，問卷內容包含以下主題：

一、雞場之基本資料，包含地理條件、雞舍數量等基本環境設施條件。

二、雞舍之衛生設備與管理，包含用水之來源與處理、斃死雞之處理方式、各種病媒之預防設施、滅除頻率等。

三、雞場之常規管理，包含工作人員與訪客管理等。

四、飼養計畫，包含雞隻來源、防疫紀錄、發生疫情之管理、飼料來源與使用情形、雞舍清空與消毒程序等。

完整問卷進行實際訪查前先經由九名家禽相關從業人員協助審核內容之適切性與問題之明確性，加以增修後完成一份包含基本資料與 78 項問題之調查問卷，皆為封閉或半封閉式題型，並經研究人員於現場訪查 7 位雞農後確認每份問卷皆約可於 30 分鐘左右完成，並為避免猜測性應答所造成的誤差，統一於出雞前兩週之採樣時進行問卷調查，以確認對於該場次管理與飼養情形可得到完整明確的應答。最後依前預備試驗結果之北臺灣地區白肉雞場常見模式來修改問卷，遂從 78 題精減為 56 題，本調查實際使用問卷請見附錄一。

### 3-1.2.2 採樣時間與樣本種類

根據前預備試驗結果以最佳的採樣時間點，包括入雞、出雞前兩週與下一批雞入雞時；檢體類別包含雞隻臟器、飼料，雞隻之採樣乃選取入雞後於雞舍內選取 24 小時內活動力或健康狀況異常之淘汰雞。

以連續三個時間點進行雞隻檢測可確認不同飼養階段與兩批次間的雞隻有無感染，以追蹤各時間點的污染情形；飼料之沙門氏桿菌污染可能造成雞場大規模的水平污染，故其檢測可瞭解飼料是否為臺灣地區沙門氏桿菌污染雞場的風險因子。

### 3-1.3 沙門氏桿菌分離與鑑定方法

所有檢體於採檢後皆盡速保存於低溫冷藏環境，當天以低溫宅配運送至實驗室，在進行試驗前皆冷藏保存。分離方法依檢體種類而有所差異，雞隻先以無菌操作法取得肝、膽、腸、胃等臟器後依循ISO 6579 : 2002/Amd.1: 2007 (E)之程序進行沙門氏桿菌培養分離；飼料檢體之分離方法請參照3-2.2。

細菌鑑定方法為於每一種培養基上各選取3-5個典型或可疑菌落接種於tryptic soy agar (TSA; Merck, USA) 繼代至少一代後進行生化鑑定。生化鑑定可使用 triple sugar iron agar (TSI ; Merck)、sulfide-indole- motility medium (SIM ; Merck)、lysine decarboxylase test、urease test (URE ; Merck) 等鑑定培養基或以商業生化鑑定套組 (API-20E ; BioMerieux sa, MarcyI'Etoile, France) 輔助進行。

惟須注意部份沙門氏桿菌血清型之生化特性並不一致，例如TSIA可能為K/A或K/AG (H<sub>2</sub>S+)、CIT多數血清型呈現陽性而少數為陰性等。在培養基上是否具有硫化氫 (Hydrogen Sulfide ; H<sub>2</sub>S) 並非絕對的選擇標準，因此在XLD、HE上挑選可疑菌落時尤應注意勿過份依賴此生化性狀 (蔡, 2006)；目前已知至少有10% *S. Paratyphi*、50% *S. Choleraesuis*、與部分發生基因突變之*S. Heidelberg*、*S. Typhimurium*皆不產生硫化氫。

而在雞隻分離株尤應注意 *S. Pullorum*、*S. Gallinarum*皆不具運動性，*S. Gallinarum*不產氣；並由於飼料之原料成份包含了複雜的來源，像是羽毛粉、動物性成分如魚粉、肉骨粉等，因此例如當出現lysine、CIT皆呈現陰性時應繼續鑑定是否為*S. Choleraesuis*，勿因該血清型少見於家禽而忽略排除。

血清學鑑定則利用*Salmonellae* O、Vi、H等抗原之市售標準抗血清 (Difco, USA; Denka Seiken Japan) 進行凝集試驗，所得結果依廠商之說明書進行判讀並依據Kaufmann-White-Schema進行血清型分型。

### 3-1.4 統計分析方法

使用統計軟體 SAS<sup>®</sup> system 9.1 進行數據分析，探討風險因子與禽場污染沙門氏桿菌之相關性使用卡方分析 (chi-square test)，但若樣本數小於 5 時則以費雪精確檢定 (Fisher's exact test) 進行單變項統計分析。此外亦計算各因子之勝算比(Odds ratio) 與其 95 %信賴區間 (95 % confidence interval)，並選取  $P < 0.25$  之單一因子進一步以多變項邏輯式回歸分析 (multiple logistic regression analysis) 進行資料分析以調整變項間之干擾。



## 第二節 臺灣地區家禽場飼料污染沙門氏桿菌調查

### 3-2.1 試驗設計

本調查以兩階段進行，先經由前預備試驗之北部 20 場次、中部 12 場次、南部 23 場次與東部 12 場次得到場陽性率結果後，再根據農委會統計室 97 年度各地區總雞場數得知符合統計學要求之場數後進行逢機採樣，實驗設計與流程圖請見圖二。並為因應不同地區之雞場有相當程度的雞隻品種差異故採不同之採樣策略。

#### 3-2.1.1 採樣策略

本研究之實施方法為因應不同地區所飼養的雞隻品種分佈差異，故採不同的採樣策略。



##### (一) 北部地區

北臺灣地區包括台北縣市、新竹縣市、桃園縣、宜蘭縣、基隆市，由於此區域所飼養的家禽種類主要以白肉雞場為主，故以白肉雞料作為調查樣本，並連續性採樣方式於 3 至 4 個時間點進行調查。並依據 97 年度農委會第三季白肉雞場落於場規模大於 10,000 隻的飼養戶數為 144 場，以前預備試驗之場陽性率 70%，推論在符合 10% 精密度、90% 信心水準下北部採樣場次應達 41 場。

##### (二) 中、南部地區

包括苗栗縣、台中縣市、彰化縣、南投縣、雲林縣、嘉義縣市；南部地區則包含台南縣市、高雄縣市、屏東縣。中南部是家禽產業之重鎮，根據農委會 97 年度第三季統計結果，彰化縣乃全臺飼養蛋雞場數最高 (797/1637, 48.7%)、雲林縣則為全臺肉雞飼養戶數最高 (689/4364, 15.8%)，且肉種雞場之在養數亦為全臺之冠 (748,600/3705,802, 20.2%)。由於中南部具備高密度的養禽場且飼養禽種較多的特性，故飼料之採樣方法依據採樣禽種之分佈與飼養特性，採檢禽場多樣化的包括了種雞、有色

肉雞、蛋雞與白肉雞，單一時間點的隨機於各雞場選取一個雞舍進行採樣。

依據 97 年度農委會第三季中部肉雞與蛋雞場共 3,163 戶、南部 2,063 戶，與前預備試驗之場陽性率分別為 8.7 %、7.5 %，推論在符合 10 %精密度、95 % 信賴區間之條件下，中、南部採樣場次各應達 31、27 場次。

### (三) 東部地區

包含花蓮縣、台東縣，此地區飼養禽種以有色肉雞與白肉雞為主，本調查之採樣方法等同中南部地區以非連續追蹤式的單批單次採樣進行，由於該地區於前預備試驗中的場陽性率為 0 % (0/12)，故引用中、南部場陽性率之平均值 8.1 %，推論在符合 10 % 精密度、95 % 信賴區間之條件下應調查 26 場次。

另因種雞場具備可達 70 週之長期飼育，且飼養期間易於不同時間點內使用一種以上品牌飼料等特性，故針對種雞飼料於北部與中部長期調查 5 場次，以連續性採樣作法為分別採取 5 個時間點之飼料進行檢測，時間點可分別為：1 日齡至 1 週齡間（種小雞料）、6 週齡以上至 12 週齡間（種中雞料）、18 週齡以上至 24 週齡間（種雞初產料）、28 週齡以上至 30 週齡以上（種雞產蛋料）以及 30 週齡以上（種雞產蛋料），並於每個時間點各採樣 1 至 2 次。

綜合以上各地區符合統計需求之場數，本調查之全省採樣場預期應達 130 場次，最後實際採樣場數為 154 場次。

#### 3-2.1.2 飼料檢體之採樣方法

於各雞場選定一雞舍進行飼料採樣，分別採取各雞舍之飼料塔（桶）、飼料斗、飼料槽（盤）之飼料檢體，以密封袋於各個採樣點中以不同區域分散採集 3 至 5 處飼料混合成一份飼料檢體，每個檢體至少採取約 50 g 的飼料，約 5 號密封袋三分之二滿即可。採樣同時應紀錄各場次資料，包括飼料品牌、雞種、採樣點、採樣時間點等。



### 3-2.2 沙門氏桿菌之分離與鑑定

採得之飼料皆以低溫冷藏方式寄送至實驗室，未立即進行分離之檢體以低溫冷藏保存待驗。進行實驗前先將飼料均勻混合後，取 25 克進行沙門氏桿菌之分離。根據 ISO 6579:2002 之標準選擇培養液與培養基，操作簡述如下：(1) 前培養 (非選擇性增殖，pre-enrichment)：將飼料置入 225 ml 之 buffered peptone water (BPW；Merck) 充分震盪混合後培養於 37 °C，18±2 小時；(2) 選擇性增殖 (selective enrichment)：吸取培養後的 BPW 上層液各 0.1 ml 與 1 ml 分別加入 10 ml 之 Rapport-Vassiliadis medium with soya broth (RVS；Merck) 與 9 ml 之 Muller-Kauffmann tetrathionate / novobiocin broth (MKTn；Merck)，分別依 41.5±1°C 與 37±1 °C 下培養 24±3 小時；(3) 分離繼代 (plating-out)：約 45 度角傾斜上述之培養液之培養管，以 10 μl 接種環調取表面菌液，接種於 xylose lysine deoxycholate agar (XLD；Merck) 與 brilliant-green phenol-red lactose sucrose agar (BPLS；Merck) 於 37 ±1°C 下培養 24 ±3 小時。另針對飼料槽之檢體，因經前預備試驗分離結果推論可能有較高環境常在菌的污染，故參照 ISO 6579:2002/Amd.1:2007 之方法，增加使用 CHROMagar Salmonellae medium (CAS；CHROMagar Company, France) 進行分離。

當有可疑菌落生長時，於每個檢體挑選 3-5 個單一菌落繼代至 tryptic soy agar (TSA；Merck, USA) 後進行生化鑑定與血清型分型，請參酌 3-1.1.3。

### 3-2.3 統計分析方法

使用統計軟體 SAS<sup>®</sup> system 9.1 進行數據分析，對於各項影響沙門氏桿菌分離率的變項包括雞隻品種、區域、飼料採樣位置、飼料廠牌、培養基與培養液搭配效果等，以卡方分析 (chi-square test) 進行單變項統計學分析，但若樣本數小於 5 時則以費雪精確檢定 (Fisher's exact test) 進行。

## 第四章 結果

### 第一節 北臺灣地區白肉雞場污染沙門氏桿菌風險因子調查

#### 4-1.1 前預備試驗結果

根據問卷調查回覆結果得到初步北臺灣地區白肉雞場之各項基本環境、衛生設備、常規管理與飼養計畫之資料，也因此瞭解臺灣之養殖條件與環境與國外相當的差異。前預備試驗採樣以連續四個時間點、配合三種採樣檢體種類執行，順利找出最適於臺灣地區進行白肉雞場風險因子調查之採樣時間點與檢體種類，統計結果與討論詳述於下：

##### (一) 雞場的基本環境條件

開放式雞場較集中於 10,000~19,999 隻規模間(6/11)，水簾式雞場則較多於 60,000 至 69,999 隻規模間(3/9)；水簾式雞場 (8/9, 88.9%) 可能因較常大規模生產飼育的關係，場陽性率有高於開放式雞場 (6/11, 54.5%) 的趨式，但仍未達統計學上顯著差異( $P=0.0954$ )，詳請參酌表二。陽性場之縣市別與飼養型態分佈，分別為桃園縣市 8/13 (61.5%)、宜蘭縣市 6/6 (100%)，詳請參酌表三。調查場與其他雞場之距離大多有超過 300 公尺以上的距離 (70%)，而雞場內各棟雞舍的距離經常在 10 公尺以內 (80%)，部分雞舍外圍有小於 2 公分的鐵絲網杜絕野鳥入侵 (70%)，雞場入口大多無門鎖裝置來控制門禁 (70%) 但雞舍門總是緊閉 (100%)，大多數在雞場內養寵物或或有野貓犬鳥 (85%)，而多數雞場附近沒有畜養其他種類家畜 (70%)，詳請參酌表四。

##### (二) 雞場之衛生設備層面

調查場雞舍內皆無手部消毒器裝置 (100%)，且大多數未具備鞋浴池設備 (90%)，大多數雞場未具備專用的儲藏室作為斃淘死雞隻的暫時儲存場所 (75%)，雞隻飲用水大多非自來水 (70%)，工作人員用水亦同 (65%)，清洗消毒雞舍使用的水源多為地下水 (70%)，大多會添加消毒劑 (85%)，進雞前清潔消毒較易忽略而偏低的區域是風扇等通風設備 (55%)；各雞場皆具備滅鼠設施，較常使用毒餌 (85%)，相較之

下定期消滅蒼蠅害蟲的雞場較少（55%），詳請見表五。

### (三) 調查場的常規性管理

近半數的雞場工作人員同時在一個以上的雞場工作（45%），工作服/鞋的清潔經常是每日清洗（75%）；在進入雞舍前執行率最高的是換穿雨鞋或工作長靴（85%），確實換穿工作服、手部消毒或洗手的執行率較低（15%，15%）且戴工作帽的習慣偏低（5%），以上詳請參酌表六。

### (四) 各雞場的飼養計畫

呈現較一致之處在於墊料種類全為穀糠（100%）、不分日齡，每次進料至吃完接大約在一週至十日內（100%）、飼料皆為飼料廠以車輛運送並現場填充至飼料桶，故沒有存放飼料在雞舍內的習慣（100%）。雞場內幾乎所有雞隻採統進統出（80%），半數以上雞場有一個以上的種雞來源（65%）且離雞運送至雞舍時所使用的容器多為塑膠籠（85%），有少數雞場會將不同來源的雞隻飼養於同一棟雞舍內（10%）；於飼養過程中最容易發生雞隻生病或死亡的階段一般認為是進雞時與出雞前兩週（65%，45%），當場內有不合理之死亡或發病數發生時最常見之第一處理方式是自行剖檢（70%）；雞舍完成清潔消毒後一般間隔兩週內即再進雞（80%），墊料的厚度大多未大於7公分（90%），使用前會先移除發霉或結塊的墊料的雞場偏低（35%），以上詳請參酌表七。

### (五) 採樣時間點與檢體種類

各採樣檢體種類佔分離菌株比例依序為雞隻/內臟(50%)、飼料(38.5%)、鞋套(11.5%)，不同採樣檢體種類對於分離結果有顯著差異( $p < 0.05$ )。最常分離到沙門氏桿菌的採樣時間點為出雞前兩週時 (46.2%， $p < 0.05$ )。詳請參酌表八。

### (六) 結論

控制措施在商業白肉雞場由於必須考量各個可能導致的污染源而顯得複雜，而影響家禽感染沙門氏桿菌的特異性風險因子又往往與飼養之經營管理方式與衛生條件有關，經 20 場次之前預備試驗已得到最有效採樣方法評估結果。

## 4-1.2 北臺灣地區調查結果整合

### 問卷調查

#### (1) 雞場的基本環境條件

針對北臺灣地區飼養規模大於 10,000 隻以上之白肉雞場進行採樣調查，調查場數共 41 場。以雞場型態區分，開放式雞場共 14 場且較集中於 10,000~49,999 隻飼養規模 (12/14, 85.7%)；水簾式雞場共 27 場次，較多於 30,000-99,999 隻規模間 (21/27, 77.8%)，詳請見表九。

多數調查場之雞舍為自有而非租用 (80.0%)，雞場入口具有需以鑰匙開啟之門鎖 (58.5%)，雞舍形式以水簾式居多 (65.9%)，約半數的水簾式為單層雞舍型態 (55.6%)；雞場內雞舍的數量經常為 3 間以上 (61.0%)，調查場與附近雞場的距離多數大於 100 公尺 (90.2%)，調查場內之雞舍與雞舍間距多數大於 10 公尺 (70.7%)；近半數的雞場具有圍牆與外界隔離 (51.2%)，部分雞舍外圍具有小於 2 公分的鐵絲網以杜絕野禽進入 (75.6%)；調查場與通往外面之主要道路的距離多數大於 100 公尺 (65.9%)，雞場附近 500 公尺以內經常有池塘或河流 (63.4%)；而多數雞場附近 100 公尺內沒有畜養其他種類家畜 (73.1%)，但經常在雞場內飼養犬貓伴侶動物 (97.6%)，但不到半數會定期的清掃雞場內的犬貓糞便 (44.0%)，以上請見表十。

#### (2) 雞場的衛生設備

部分雞場在進入雞舍前有一獨立的室內空間可供工作人員更換工作服與清潔雙手 (63.4%)，有些雞場會定期清掃此空間 (61.0%)。部分雞場內沒有專用儲藏室供存

放斃死之雞隻 (65.9%)，多數雞場於雞舍入口處沒有鞋浴池 (70.7%)，且雞舍內經常不具有手部消毒清洗設備 (90.2%)；近半數的雞場在各雞舍皆有專用清潔工具例如清潔用的掃把畚斗等，並不在各雞舍間互相通用 (53.7%)。

雞場內工作人員用水近半數為自來水 (53.7%) 而雞隻飲用水則大多非自來水 (82.9%)，但近半數雞場會先經處理才使用 (50.0%)，最常處理的方式是添加消毒劑 (52.9%) 其次是過濾 (47.1%)；清潔雞舍時的水源最常使用地下水或山泉水 (73.2%、14.6%)。多數雞場具備滅鼠設備 (95.2%)，但僅有近半數的雞舍具備防止老鼠進入之設備 (51.2%)，一些雞場會定期於每季至少進行滅鼠措施一次 (58.5%)，部分會定期消滅蒼蠅害蟲 (63.4%)，以上請見表十一。

### (3) 雞場之常規性管理

每個養雞工人所照顧的雞舍數量經常大於 3 個 (87.8%)，部分雞場工作人員同時在一個以上的雞場工作 (36.6%)，每日進出各雞舍的人員大多只有一人 (70.7%)；工作服/鞋的清潔經常是每日清洗 (75.6%)，在進入雞場前執行率最高的是換穿工作雨鞋 (92.7%)，但僅少數人員會在進出不同雞舍時換穿工作雨鞋 (36.6%)，且多數工作人員進入雞舍前不會先洗手 (75.6%)，以上請見表十二。

### (4) 雞場的飼養計畫

半數以上雞場有一個以上的種雞來源 (56.1%) 且雞隻運送至雞舍時所使用的容器多為塑膠籠 (90.2%)，通常在進雞前一週內會先買好飼料 (82.9%)，有少數雞場會將不同來源的雞隻飼養於同一棟雞舍內 (9.8%)；於飼養過程中最容易發生雞隻生病或死亡的階段一般認為是進雞時，其次是出雞前兩週 (61.0%、43.9%)；出雞後，約半數雞場會立即清運墊料與廢棄物 (56.1%)，部分雞舍在完成清潔消毒後一般間隔 10 天內即再進雞 (29.3%)。呈現較一致的地方在於雞隻皆統進統出，墊料種類全為穀糠 (100%)、每次進料至吃完大約在 7 至 10 日內 (100%)、飼料皆為飼料

廠以車輛運送並現場填充至飼料桶，故沒有存放飼料在雞舍內的習慣（100%），以上請見表十三。

### 4-1.3 北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子

本研究為首次為北臺灣地區白肉雞場污染沙門氏桿菌之相關風險因子進行研究分析，經單因子變項分析結果顯示下列因子的存在可減少污染之風險但未達統計學意義：(1)水簾式雞舍之型式為一層而非多層時；(2)雞場入口具有需以鑰匙開啟之門鎖；(3)當雞隻飲水非自來水但先經處理過再使用；(4)定期清掃雞場內之犬貓糞便；(5)工作人員每天換洗工作服與工作鞋。

提高污染風險的因子則包括：(1)雞場不具有圍牆與外界隔離；(2)進入雞舍前沒有一獨立之室內空間可供更換工作服與清潔雙手；(3)雞隻運送至雞舍時所使用的容器是塑膠籠；(4)雞隻來源為單一雞場以上所提供；(5)墊料使用前沒有先移除發霉或結塊的部份。以上因子以多變項邏輯式回歸分析顯示以上因子同時存在時的效應未達統計之顯著相關，以上詳請見表十四、表十五。

### 4-1.4 沙門氏桿菌污染於雞場之分佈情形

#### (1) 雞場型態與檢體種類

白肉雞場污染沙門氏桿菌之場陽性率為 56.1 % (23/41)，依雞場飼養型態區分則水簾式雞場 59.3 % (16/27) 之場陽性率略高於開放式雞場 50.0 % (7/14)，雞場型態對於污染沙門氏桿菌的影響未達統計學差異 ( $p=0.5716$ )。本研究中的檢體種類包含雞隻與飼料，其場陽性率分別為雞隻 43.9 % (18/41)、飼料 26.8 % (11/41)，雞隻分離率

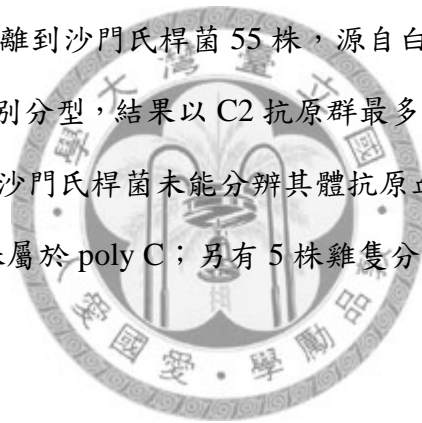
較高但未達統計學顯著差異 ( $p > 0.05$ )。

## (2) 氣候因子對於雞場污染沙門氏桿菌之影響

本調查中涼季之場陽性率為 60.7 % (17/28)，熱季為 46.2 % (6/13)，經卡方分析顯示涼季與熱季對於雞場污染沙門氏桿菌的影響達顯著差異 ( $p < 0.05$ )，雨季與乾季對於雞場污染沙門氏桿菌的影響則未達顯著差異。

### 4-1.5 沙門氏桿菌分離株之血清型鑑定

本調查自 23 個陽性場共分離到沙門氏桿菌 55 株，源自白肉雞飼料 25 株、雞隻內臟 30 株。進行 O 抗原血清型別分型，結果以 C2 抗原群最多(41.8 %)，其次為 E 群 (29.1 %)、B (13.6 %)；共有 8 株沙門氏桿菌未能分辨其體抗原血清群 (O sero-group)，包含 3 株飼料分離株，其中 1 株屬於 poly C；另有 5 株雞隻分離株，3 株屬於 poly A，詳請見表十六。



## 第二節 臺灣地區家禽飼料污染沙門氏桿菌調查

### 4-2.1 前預備試驗

飼料件之採樣地區含括臺灣北、中、南部，共調查 92 個雞場，檢測件共計 419 件；檢測結果顯示各地區之場陽性率分別為北部白肉雞飼料 70 % (14/20)、中部 8.7 % (2/23)、南部 7.5 % (3/40)、東部 0 % (0/12)，詳請見表十七。

#### (一) 沙門氏桿菌污染飼料之分佈情形

飼料件之採樣地區含括臺灣北、中、南部，共調查 92 個雞場，檢測件共計 419 件，實施成果如下，對於各項影響沙門氏桿菌分離率的變因，包括雞隻品種、區域、飼料採樣位置、飼料廠牌、分離出沙門氏桿菌之培養液與培養基搭配效果等因子，分別進行統計分析。

#### (二) 採樣之雞場與飼料種類、數目

北部地區參與採樣之雞場包含桃園、新竹與宜蘭縣市的雞場共 23 場，檢測飼料共計 256 件；中部地區採樣 23 場，包括苗栗縣與台中縣市，飼料共計 48 件；南部地區採樣 40 場，包含雲林、高雄、台南與屏東縣市，飼料採樣數為 115 件。以全省不分區域之飼料種類統計，白肉雞料共計 277 件、種雞料 46 件、蛋雞料 54 件、有色肉雞料 21 件、土雞料 21 件，詳請參酌表十八。

#### (三) 不同種類飼料之沙門氏桿菌分離結果概述

目前已有 18 件雞場飼料確認為沙門氏桿菌陽性，共得分離株 20 株。沙門氏桿菌分離株分離自 15 個雞場 (15/92, 16.3 %)，分別採自 10 個北部的白肉雞場 (10/20, 50%)、中部的種雞場與蛋雞場各 1 場 (1/16, 6.3 % ; 1/3, 33.3 %) 與南部的種雞場、蛋雞、有色肉雞各 1 場 (1/5, 20 % ; 1/17, 5.9 % ; 1/6, 16.7 %)。全省雞場飼料不分區域之場陽性率分別為白肉雞 37.0 %、種雞 6.7 %、蛋雞 10.0 %、有色肉雞 12.5 %、土



雞 0.0 %;不分飼料種類統計，北部地區以連續性採樣之飼料檢出率為 43.5 %、中南部地區採單次採樣，檢出率分別為 6.9 %、7.5 %，詳請參酌表十九。

統計學的結果發現沙門氏桿菌陽性盛行率在不同種別雞隻( $p < 0.05$ )以及不同地區( $p < 0.01$ )之間分別呈現顯著以及極顯著差異。其中沙氏桿菌盛行率在白肉雞最高，而北部高於其他地區，而此結果可能與北部白肉雞場採樣採連續性追蹤採樣，與中南部地區採單次採樣方法不同所造成的差異有關，日後的家禽場飼料採檢採多次連續追蹤式的採樣方法應可提供較客觀的雞場沙門氏桿菌污染結果。

#### (四) 不同採樣點之檢測結果比較與飼料品牌分佈

陽性檢體之飼料採集點分別為飼料桶(塔) 8 件(8/171, 4.7 %)、飼料斗 6 件(6/99, 6.1 %)與飼料槽(盤) 4 件(4/149, 2.7 %) ;整體而言，不同飼料採樣位置對於沙門氏桿菌的分離率呈現顯著影響( $p < 0.05$ ) ;進一步分析可以發現，於肉雞(尤其白肉雞)，不同採樣點對於沙門氏桿菌的分離率呈現顯著影響 ( $p < 0.05$ )，飼料桶為最容易分離到沙門氏桿菌的位置。不同採樣位置對於種雞或蛋雞沙門氏桿菌的分離率則無顯著影響 ( $p = 0.535, p = 0.08$ )。

於表二十可見，不同種別飼料的陽性檢出率依序分別為種雞 6.5 % (3/46)、有色肉雞 4.8 % (1/21)、白肉雞 4.3 % (12/277)、蛋雞 3.7 % (2/54)、土雞 0.0 % (0/21)，不同雞隻之間具有顯著差異( $p < 0.05$ )，其中以種雞的分離率最高。

飼料品牌分佈請參酌表十九，檢測 15 種市售品牌飼料品牌，其中僅三個品牌檢測出沙門氏桿菌陽性。不同飼料品牌對於沙門氏桿菌的分離率具極顯著影響( $p < 0.01$ ) ;陽性檢體之飼料品牌分布情形為 A 牌 8 件 (8/130, 6.2 %)、B 牌 9 件 (9/148, 6.1 %)、C 牌 1 件 (1/24, 4.2 %)。

#### (五) 不同培養基之使用對於飼料檢體分離效果之差異

本計畫實施方法參照 ISO 6579:2002 之方法，以兩種選擇性增殖液 RVS 與 MKTTn 培養後再同時以 XLD、BPLS 進行培養分離，並參照 ISO 6579:2002/Amd.1:2007 方法，

針對易受雞隻與環境污染的飼料槽檢體增加使用 CHROM agar Salmonellae (CAS)，以期能增加分離效果。自表二十結果發現使用不同培養液及培養基對沙門氏桿菌的分離率有極顯著影響 ( $p < 0.01$ )，整體而言 RVS 配合 XLD 為最好的方式(10/20；50.0%)，尤其對於分離飼料桶 (6/9，66.7%) 與飼料槽檢體 (3/4，75.0%) 的效果最好；而分離飼料斗檢體則以使用選擇性培養液 MKTTn 搭配 BPLS (5/7，71.4%) 可得最佳的分離效果 ( $p < 0.001$ )。

## 4-2.2 調查結果整合

### (一) 於各地區與禽種間

自 2008 年四月至 2009 年五月間進行採樣調查，調查雞場數達 154 戶，檢測件共計 778 件，沙門氏桿菌分離株共 59 株 (59/778，7.6%)。北部調查白肉雞採樣共 397 件，場陽性率為 34.1% (14/41)。中部採樣飼料樣本共 179 件，場陽性率為 35.3% (12/34)；南部採樣件數 131 件，場陽性率 35.3% (12/34)；東部樣本數共 71 件，場陽性率 5.7% (2/35)。統計結果發現不同地區間的場陽性率呈現顯著差異( $p = 0.0417$ )，但需此結果尚需考量各地區之採樣禽種分佈與採樣件數的差異所造成的統計誤差。

不分地區別統計，全臺之沙門氏桿菌總場陽性率在白肉雞、種雞、蛋雞與有色肉雞之間呈現顯著差異( $p < 0.05$ )，其中以種雞 42.3% 最高 (11/26)、白肉雞 21.5% (14/65)、蛋雞 15.0% (3/20)、有色肉雞 11.1% (5/45)；根據不分飼料種類與地區別統計，全臺之飼料污染場陽性率為 21.4% (33/154) 顯示家禽飼料污染沙門氏桿菌的現象並不算少見，詳請見表二十一。

### (二) 不同採樣點與飼料品牌

取自飼料桶、飼料斗與飼料槽這三個採樣點的沙門氏桿菌分離率分別為 7.3%

(22/300)、6.1 % (12/198)、8.9 % (25/280)，統計結果顯示不同採樣點的沙門氏桿菌總分離率並無顯著差異 ( $p=0.1991$ )，但是取自飼料槽的檢體，在不同雞種之間對於沙門氏桿菌的分離率則呈現顯著差異 ( $p < 0.05$ )，其中以白肉雞最高(10.8%)、蛋雞最低(4.3%)，詳請見表二十四。

檢測結果呈現沙門氏桿菌陽性之飼料品牌分佈請參酌表五，檢測件共涵蓋16種市售品牌飼料品牌，其中有5個品牌檢測出沙門氏桿菌 (5/16，31.3%)。不同飼料品牌對於沙門氏桿菌的分離率具極顯著影響 ( $p < 0.01$ )；陽性檢體之飼料品牌分佈情形為A廠牌11.1 % (33/298，11.1%)、B廠牌5.7 % (14/246)、C廠牌11.1 % (7/86)、D廠牌8.2 % (7/86)、E廠牌4.2 % (1/24)。

而針對在種雞場可能出現於不同飼養階段使用不同廠牌飼料的現象，本調查中使用多種飼料品牌之種雞場的場陽性率為 60 % (3/5)，而使用單一種飼料品牌之種雞場場陽性率為則為 30 % (3/10)，應持續累積樣本數後方能評估此因素是否顯著的增加污染沙門氏桿菌的風險。



#### 4-2.3 不同培養基之使用對於飼料檢體分離效果之差異

本試驗方法之培養基搭配組合共有 6 種，各搭配組合所分離到的菌株數量各佔總分離株的比例為: MKTTn 搭配 XLD 14.3 % (10/70)、MKTTn 搭配 BPLS 20.0 % (14/70)、MKTTn 搭配 CAS 2.9 % (2/70)、RVS 搭配 XLD 28.6 % (20/70)、RVS 搭配 BPLS 10.0 % (7/70)、RVS 搭配 CAS 24.3 % (17/70)；比較飼料槽檢體使用 CAS 前 (4/145，2.7%)、使用後(25/280，8.9%)的分離效果，使用 CAS 培養基後顯著提高沙門氏桿菌之分離率 ( $p = 0.014$ )。整體而言分離效果以 RVS/XLD 最佳( $p = 0.0014$ )，RVS 搭配 CAS 其次。

#### 4-2.4 沙門氏桿菌分離株之血清型別鑑定

於飼料檢體共分離得到 70 株沙門氏桿菌分離株，扣除部分檢體因同時自兩種以上之培養基搭配組合中所分離到並經確認為同一血清型的 11 株，故共有 59 株分離株。菌株的飼料種別統計包括白肉雞飼料 28 株、種雞 19 株、其他飼料種類 3 株。菌株皆保存並進行血清型分型，最常見的體抗原血清群依序為 C2 群 (41.8%)、E 群 (20.3%)、B 群(11.9%)；尚有 13 株未能分辨其體抗原血清群，包括 3 株分離自白肉雞飼料、7 株種雞飼料、2 株有色肉雞飼料、1 株蛋雞飼料分離株。其中 1 株屬於 poly A、3 株屬於 poly B、1 株屬於 poly C，詳請見表二十七。



## 第五章 討論

### 第一節 北臺灣地區白肉雞場污染沙門氏桿菌風險因子調查

本研究建立了適用於北臺灣地區白肉雞場風險因子之調查方法，而透過以問卷為基礎的病例調查研究，獲得各項飼養層面之統計資訊並結合沙門氏桿菌檢測結果推論出此地區易造成禽場污染之風險因子，相信將有助於後續雞場調查或防疫宣導方向之確認。

#### (一) 調查方法之建立

家禽場風險因子調查之採樣方法尚未有國際統一化，前人研究中採檢的樣本種類包括禽場粉塵、糞便、白肉雞盲腸扁桃節、鞋套等，多以單一檢體作為判斷的標準，僅少數研究以一種以上的檢體種類進行採檢；而採樣的時間點最常單一的選擇在三週齡時或者隨機未固定時間點，少部分以一個以上的時間點進行採樣 (Angen *et al.*, 1996 ; Bisgarrd, 1992 ; Cardinale, *et al.*, 2004 ; Gradel & Rattenborg, 2003 ; Namata, *et al.*, 2008 ; Skov *et al.*, 1999)。

為兼顧調查方法之經濟與有效性，本研究於前 20 場次的前預備試驗中 4 個採樣時間點與 3 種檢體中，分別選取分離率最高的 3 個時間點與 2 種檢體種類完成後續調查，為首例建立適用於臺灣北部地區白肉雞場風險因子評估採樣方法的研究。

#### (二) 風險因子調查結果

北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌的場陽性率為 56.1 %，顯示雞場的污染是常見的，而整體而言調查結果顯示雞場之衛生設備與管理仍有加強進步的空間，以下防疫重點因屬北部地區普遍的飼養型態，故益顯重要：

- (1) 雞場普遍使用地下水或泉水，且僅半數雞場會在使用前作過濾或添加消毒劑，在未確認水質情況下對於用水之前處理的重視尤應加強。
- (2) 飼料採購時由飼料車到雞場填充飼料至飼料塔中，每次食用完畢的時間大多於 7

至 10 天內，這段時間飼料的儲存是處於無任何溫度與濕度控制的情況下，故應盡量縮短於飼料塔的儲存時間。

- (3) 調查顯示半數以上的雞場向一個以上的種雞場購買雛雞，且目前種雞場使用的運輸容器以可重複使用的塑膠籠為主。雞場可能因為成本考量、經驗導向或因進雛量過大故須同時購買不同種雞場的小雞等因素而使用一個以上的種雞場雛雞，然而多元的雛雞來源增加了雞場環境污染的機會，也增加場內雞隻統進統出之困難度。應盡量固定選擇一家品質穩定的種雞場，即使需使用多來源之雛雞，也應盡量讓批次間隔不多於一週（行政院農業委員會，1994）。
- (4) 雛雞運輸籠若重複使用易使病原於不同批雛雞間傳播污染，故當種雞廠商有成本考量而必須使用此類運輸容器時尤應加強清潔消毒（Slader *et al.*, 2002）。
- (5) 部分雞場對於防止野鳥進入雞場的圍網措施並不確實（26.9 %），研究指出野鳥排遺具有污染禽場環境、傳播沙門氏桿菌之風險（Craven *et al.*, 2000），且亦具有散播禽流感病毒與其他病原之可能性，故應確實以適當孔徑之鐵網隔離野鳥與家禽，避免暴露於此風險中。
- (6) 老鼠為 *S. Enteritidis* 重要的媒介，且蒼蠅等病媒亦可傳播病原（Rahuma N, *et al.*, 2005），故應加強鼠害、蒼蠅等病媒之預防控制。
- (7) 幾乎所有的雞場飼養犬貓動物於場內（97.6 %），然而會定期清掃其糞便的雞場不到半數（44.0 %）。犬貓是沙門氏桿菌的自然宿主，再加上多數雞舍入口處不具鞋浴池（70.7 %）、僅少數會在進出不同雞舍時換穿工作鞋（36.6 %），以上條件說明了將犬貓糞便攜帶至雞舍內的機會是存在的。
- (8) 雞場工作人員每人負責的雞舍經常在三個以上（87.8 %），且部分人員同時在一個以上的雞場工作（36.6 %）。在人員負擔的工作量較大的情況下容易增加雞場間交叉污染的機會，進行清潔與消毒時也容易發生工作時間被縮短或效果打折的情形。
- (9) 在本調查中，一日齡雛雞之採樣乃採取已放養至雞場中的淘汰斃死雞，故當雛雞有汙染情形時需考慮的污染源包括種雞、墊料與環境因素，當檢測結果發現為同一血清型時可以脈衝式電泳進一步分析污染源。

(10) 北臺灣地區特有的氣候因子相當值得注意，全年度之相對濕度皆在 70 % 以上，且 11 至 5 月間屬於均溫低於 25 °C 的涼季；涼季時雞場污染沙門氏桿菌顯著的高於熱季 ( $p < 0.05$ )，此現象於丹麥亦為重要的風險因子，且該因子與飼料廠及雞場內的雞舍數等因子間具有交互作用。濕氣與低溫將影響雞舍在清潔、消毒與乾燥時的效果，也可能會影響飼料加熱打粒時的溫度，或影響飼料儲存的品質 (Angen *et al.*, 1996)。

衛生條件與常規管理層面之風險因子將影響禽場內交叉污染之發生頻率，而飼養管理層面則將更涵蓋了源自種雞垂直污染之風險；本調查結果提出了 9 個影響北臺灣白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子，其中 4 個與硬體設備有關，包括：水簾式雞舍之型式為一層較多層佳、雞場入口應具有需以鑰匙開啟之門鎖、雞場應具有圍牆與外界隔離、進入雞舍前應有一獨立之室內空間可供更換工作服與清潔雙手；此外，衛生習慣應加強建立定期清掃雞場內之犬貓糞便、工作人員每天換洗工作服與工作鞋、墊料使用前先移除發霉或結塊的部份。

以上資訊可提供農民在選擇雞場硬體設備與加強衛生管理之明確建議，以減緩禽場內水平污染之情形。此外，垂直感染之風險亦不容輕忽，建議儘量選擇單一優良種雞場進雞，並由於雞運送過程以重複使用之塑膠籠裝載會增加污染沙門氏桿菌之風險，故建議若廠商有成本考量而無法使用紙箱，則應加強每批次間塑膠籠之清潔消毒。

### (三) 進行調查所遭遇的困難與未來的展望

本調查因屬於多次連續性採樣，故進行雞場採樣時尤需獲得雞場同意與高度配合意願方得以順利進行，故無法以隨機抽樣的方式選擇雞場，如同前人研究般無法避免的具有選擇性偏差 (Cardinale, *et al.*, 2004)。

由於臺灣地區白肉雞場之經營方式多屬於垂直整合經營，以飼料生產業者為中心，與飼養戶簽訂契約後以保證價格或委託飼養的方式提供飼養戶小雞及飼料，所生產的肉雞再由飼料廠或委由雞販收購後售予屠宰業者。此經營方式因具有商業合作因

素，確實增加了本調查採樣的困難度。目前在國內畜牧業於飼養階層之沙門氏桿菌污染尚未尚未經國家法律管制與常規性檢測，學術與產業界間如何以互惠互信的原則增加研究調查的可行度，使法制單位可藉由瞭解國內家禽產業的現況下推動有益於農民經營品質與產銷競爭力之宣導或法規制度，將是未來值得持續努力的方向。





## 第二節 臺灣地區家禽飼料污染沙門氏桿菌調查

### (一) 從家禽的食物到人類的餐桌

在我國改善家禽感染沙門氏桿菌的措施中，在屠宰場內避免交叉污染的管控措施是最早被採納的防治重點，亦從禽場與屠宰場的盛行率調查作為防治措施評估的指標，而飼料品質的管控卻是長期被忽略的風險因子。以飼育期最短的白肉雞為例，當飼養期達六週齡時每隻肉雞之飼料消耗量約達 3.23 至 3.72 公斤 (沈，2001)，更遑論飼育期更長的有色肉雞與達數十週之種雞、蛋雞；受污染的飼料可藉由直接攝食或間接污染禽舍散佈病原 (Eriksson, Lofstrom et al. 2005)；(Shirota, Katoh et al. 2000)，家禽於飼育期間暴露於此污染的風險確實不容小覷。

飼料污染沙門氏桿菌後根據本調查結果不分飼料種類與地區別統計，全臺之飼料污染場陽性率為 21.4 % (33/154) 顯示家禽場內飼料污染沙門氏桿菌的現象其實並不少見。無論國內外的研究報告皆指出飼料原料即帶有污染沙門氏桿菌的問題 (Veldman *et al.*, 1995; 張等, 1994)，尤其是羽毛粉、魚粉與肉骨粉，植物性原料的污染亦可能相當嚴重 (Boqvist, Hansson et al. 2003)；筆者認為動物性原料污染情形除了因富含蛋白質易滋生病原外，使用屠宰線淘汰而受污染之物料亦為可能的原因。

### (二) 家禽飼料採樣檢測方法之建立

研究證實飼料的製程要達到徹底的滅菌與營養保留之雙重目標是有困難的 (Kirby and Davies, 1990)，且在飼料製程中也有發生交叉污染的風險 (Veldman *et al.*, 1995)。因此若欲由飼育生產源頭減緩家禽污染，則推動飼料品質的管理是必然的趨勢。目前除了歐盟已於 2002 年訂定法規將飼料製程列入 HACCP 食品安全控管，許多國家也已開始宣導並擬定相關的管控方法與檢測標準。而從各國發表的文獻可發現因不同國家間管理政策與檢測方法未統一等因素，因此檢測的結果可能有相當程度的差異。

隨著分子生物技術的進步，各種病原檢測皆有開發快速檢測方法之趨勢，然而飼

料之污染經常是微量的，且部分成份偏酸性，故發展快速檢測法時仍須以非選擇性培養液進行前增殖 (pre-enrichment)，僅可縮短檢測時間而無法即時性的得到檢測結果，並由於研究發現飼料部份成份易產生抑制物質干擾聚合酶鏈鎖反應，此類物質以植物性成份居多，需搭配使用特定聚合酶才能減少抑制物干擾 (Lofstrom, Knutsson et al. 2004)，且即使測得陽性反應時仍無法排除為已受損或死亡菌體，故對於飼料污染沙門氏桿菌之檢測方法目前普遍認為仍以傳統分離法最為適當。

此外，各國飼料污染之監控點並不完全相同，從上游製程中飼料成份、飼料廠內各個生產線、飼料廠粉塵及碎屑，到飼料成品之運輸過程、儲存過程，甚至是工作天對於製程污染關係與季節性對於病原增生的相關性等皆有列入管控的需要 (Veldman et al., 1995；(Jones and Richardson 2004)；(Shirota, Katoh et al. 2000)；有別於其他研究著重於之管制點，本研究為首例於禽場間進行之調查，並設計不同飼料採樣點與培養分離方法作進一步的探討，得到以下推論：

- (1) 根據不同採樣點具有不同分離率結果，故推測以三採樣點同時進行飼料採樣將可增加分離機會；因飼料槽放置於地面易參雜墊料且經雞隻直接啄食而有較高受雜菌污染機會，故建議此類檢體應增加選擇性培養基的使用以提高分離效果，本調查中增加使用 CHROM agar *Salmonellae* medium (CAS) 後顯著提高分離率 ( $p < 0.05$ )。(培養基)(Koyuncu and Haggblom 2009)
- (2) 以連續性採樣所進行的種雞飼料 (42.3%)、白肉雞飼料 (21.5%)之場陽性率顯著高於其他禽種飼料，故判斷以連續性的多時間點採樣可顯著提高分離機會。
- (3) 前人研究中曾提及飼料廠規模大小會影響飼料污染機會，生產量越大則飼料打粒之加熱均勻度較差、工作量大則較易發生交叉污染 (Angen et al., 1996)，此例或許可說明陽性檢體集中於某些常見品牌且沙門氏桿菌分離率於不同飼料品牌間具極顯著差異之現象 ( $p < 0.01$ )。
- (4) 臺灣的種雞場具有經常在飼育階段使用不同的品牌飼料的特質，根據本調查中使用多種飼料品牌之種雞場的場陽性率為60% (3/5)，而使用單一種飼料品牌之種雞場場陽性率為則為30% (3/10)，此因素可能有增加雞場污染風險之趨勢，應持

續累積樣本數後方能評估。筆者認為種雞場多品牌的交雜使用與長達數十週知飼養期應為種雞場飼料污染程度顯著較其他禽種嚴重之主因。

- (5) 根據本調查結果建議日後之研究可考慮統一使用多次連續性採樣來提高飼料檢測效果，但惟須衡量此採樣方式必須耗費相當的人力資源來追蹤確認採樣是否確實完成，也更需要禽場人員的支持與配合。

### (三) 進行調查所遭遇的困難與未來的展望

本調查因考慮不同禽種飼養特性與分佈情形之差異，故依禽種採取不同的採樣頻度，因此無法客觀比較不同禽種飼料之陽性率；回顧臺灣地區歷年來未有針對家禽飼料製程中各管制點之污染調查報告，盼此研究可供相關業者及中央行政部門參考，以進一步促成飼料製程之監控調查，釐清家禽飼料污染源頭並進一步提升我國家禽飼料業之品質。



表

**Part I. The identification of risk factors for Salmonellae contamination in broiler farms in northern Taiwan.**

**Table 1. The distribution of broiler farms with chicken flock size larger than 10,000 in northern Taiwan. Data was surveyed by Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan during 2008, 3<sup>rd</sup> season.**

Location	Number of broiler farms
Hsinchu County	23
Hsinchu City	0
Taoyuan County	66
Taipei County	1
Taipei City	0
Yilan County	54
Keelung City	0
Total	144



**Table 2. The distribution of flock sizes and type of housing in preliminary study.**

Flock size	Housing type		Total
	Open-sided	Pad-cooling	
10,000~19,999	6	0	6
20,000-29,999	2	1	3
30,000-39,999	1	1	2
40,000-49,999	1	2	3
50,000-59,999	1	2	3
60,000-69,999	0	3	3
Total	11	9	20

**Table 3. The distribution of Salmonellae isolates from different location and housing type in preliminary study.**

Location	Housing type		Total (%)
	Open-sided	Pad-cooling	
Hsinchu County	0/0 (0.0%)	0/1 (0.0%)	0/1 (0.0)
Hsinchu City	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0)
Taoyuan County	6/11 (54.5%)	2/2 (100%)	8/13 (61.5)
Taipei County	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0)
Taipei City	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0)
Yilan County	0/0 (0.0%)	6/6 (100%)	6/6 (100)
Keelung City	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0)
Flock positive rate	6/11 (54.5%)	8/9 (88.9%)	14/20 (70)

**Table 4. The profile of the broiler farms in preliminary study.**

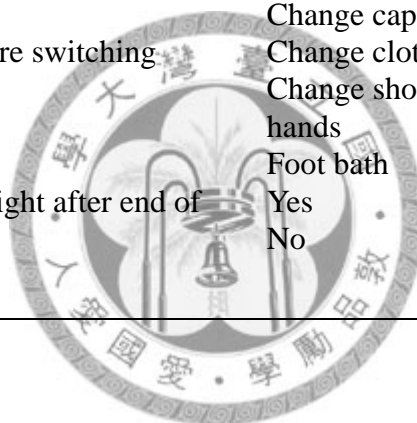
Definition of variables	Level	Flock	%
Housing type of Pad-cooling flocks	Open-sided	11	55
	Pad-cooling,	5	25
	Single layer	3	15
	Two layers	1	5
	Three layers		
The least distance between farms	Less than 100 m	1	5
	Between 100 m to 300 m	5	25
	More than 300 m	14	70
The least distance between houses	Less than 10 m	16	80
	10 m to 100 m	3	15
	More than 100 m	1	5
The distance between farm and main road	Less than 100 m	9	45
	100 m to 300 m	1	5
	More than 300 m	10	50
Existence of river or pond near the farms less than 500 m	Yes	12	60
	No	8	40
Separated from outside by walls	Yes	8	40
	No	12	60
To separated off broiler and wild bird by wire netting (small than 2 cm <sup>2</sup> )	Yes	14	70
	No	6	30
Locking of the farm entrance	Yes	6	30
	No	14	70
Existence of other farm animals/wild birds in the farm	Yes	17	85
	No	3	15
Rearing of other farm animals less than 100 m away from farm.	Yes	6	30
	No	14	70

**Table 5. The sanitation of equipment in preliminary study.**

Definition of variables	Level	Flocks	%	
Independent dressing room with washing facilities prior entering the broiler house	Yes	12	60	
	No	8	40	
A storeroom for dead chicken	Yes	5	25	
	No	15	75	
Changing of clothes and shoes when going into a different house	Yes	10	50	
	No	10	50	
Each house equipped with cleaning tools	Yes	8	40	
	No	12	60	
Tap-water for farmers	Yes	7	35	
	No	13	65	
Tap-water for broilers	Yes	6	30	
	No			
	Treat before used	Yes	4	20
	No	10	50	
Availability of a foot-bath before entering the house.	Yes	2	10	
	No	18	90	
Rodent control measures	Yes	poison bait	20	100
		rodent trap	17	85
			6	30
Frequency of rodent extermination	No		0	0
	At least once a month		9	45
			6	30
	At least once every 6 months		5	25
	Not on regular basis			
Exterminating fly routinely	Yes	11	55	
	No	9	45	
Type of water for house cleaning	groundwater	14	70	
	Tape-water	3	15	
	Spring water	3	15	
Use of disinfectant in cleaning water for the house	Yes	17	85	
	No	3	15	
Other methods to disinfect house	Yes	17	85	
		Fire	1	5.9
		Formalin	3	17.6
		Fumigation	7	41.2
		Other	6	35.3
Cleaning and disinfecting area before feeding day-old chick	No	3	15	
	Feed troughs	17	85	
	<u>Drinking fountain</u>	17	85	
	Fan	11	55	

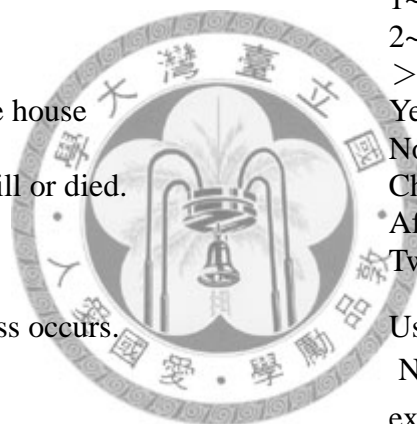
**Table 6. The general controls on broiler farms in preliminary study.**

Definition of variables	Level	Flocks %		
The frequency of cleaning working clothes/shoes	Everyday	15	75	
	Not sure	5	25	
Average working outfits provided for each workers	One set of outfit	4	20	
	2~3set of outfit	11	55	
	Not sure	5	25	
Control visitors	Yes	10	50	
	No	10	50	
Number of personnel entering the house on regular basis.	Only one person	13	65	
	> One person	7	35	
Workers working at more than one house.	Yes	9	45	
	No	11	55	
Completion of the listed items prior entering houses.	Change clothes	3	15	
	Change shoes	17	85	
	Wash hands	3	15	
	Foot bath	1	5	
	Change cap	1	5	
Completion of the listed items before switching between different houses.	Change clothes	3	15	
	Change shoes Wash hands	12	60	
	Foot bath	4	20	
	Foot bath	2	10	
Beddings and faeces are removed right after end of rearing	Yes	7	35	
	No	< 3 days	9	45
		4-7 days	4	20



**Table 7. The feeding plans in broiler farm in preliminary study.**

Definition of variables	Level	Flocks %	
All-in and all-out	Yes	16	80
	No	4	20
The source of day-old chick	Single source	7	35
	More than one source	13	65
The type of cage used for transporting day-old chick from breeder farm to broiler house	Plastics cage	17	85
	cardboard boxes	3	15
Down time for introducing new chicks after house is cleaned.	> One week	7	35
	1~2 week	9	45
	2~3 week	2	10
	> 3 week	2	10
	Yes	2	10
Rearing day-old chicks from different sources in the same house	No	18	90
	Chick before one-week old	13	65
Period of time during rearing which most chicks became ill or died.	After vaccination	4	20
	Two weeks before end of rearing	9	45
	Use antibiotics	5	25
Type of measures taken when unreasonable death or illness occurs.	Necropsy by farmer	14	70
	examination by inspection authorities	3	15
	vaccination or feedstuff companies	4	20
	Veternary	6	30
	Yes	5	25
	No	15	75
Drinking water of the chicks are treated or enriched with additives	<=3 cm	5	25
	4-6 cm	13	65
	>=7 cm	2	10
Depth of litters	Yes	7	35
	No	13	65
Removal of moldy or coagulated litters before use.	Yes	7	35
	No	13	65





**Table 8. The Salmonellae isolation rates of different sample type at various sampling time in preliminary study.**

Sample type	Sampling time				Number of isolates
	Day-old	One week-old	Two weeks before end of rearing period	Day-old of next flock	
Chicken	3/20 (15.0%)	5/20 (25.0%)	4/19 (21.1%)	1/16 (6.3%)	13/26 (50%)
Feed	0/20 (0.0%)	2/20 (10.0%)	6/19 (31.6%)	2/16 (12.5%)	10/26 (38.5%)
Sock	0/0 (0.0%)	1/20 (5.0%)	2/19 (10.5%)	0/0 (0.0%)	3/26 (11.5%)
Number of isolates (%)	3/26 (11.5%)	8/26 (20.8%)	12/26 (46.2%)	3/26 (11.5%)	26

**Table 9. The distribution of flock size and type of housing in the study.**

Flock size	Housing type				Total	
	Open-sided		Pad-cooling		Flock % <sup>a</sup>	Salm.% <sup>b</sup>
	Flock % <sup>a</sup>	Salm.% <sup>b</sup>	Flock % <sup>a</sup>	Salm.% <sup>b</sup>		
10,000-29,999	57.1	37.5	7.4	50.0	24.4	40.0
30,000-49,999	28.6	75.0	29.6	50.0	29.3	58.3
50,000-99,999	7.1	100.0	48.1	69.2	34.1	71.4
100,000 and more	7.1	0.0	14.8	50.0	12.2	40.0

<sup>a</sup> % of flocks in the study

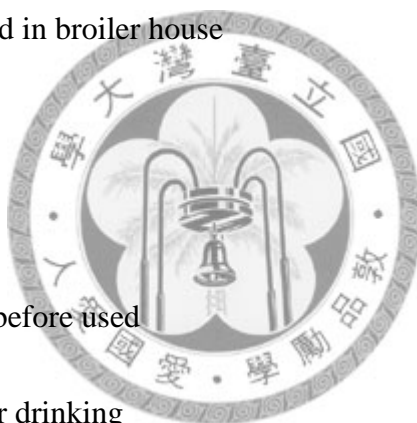
<sup>b</sup> Salmonellae prevalence in % for each flock size.

**Table 10. The profile of the broiler farms in this study.**

Definition of variables	Level	Flock (%)	S+ (%)
The ownership of farm	Farmer	80.0	54.4
	Rented	20.0	62.5
Housing type	Pad-cooling	65.9	59.3
	Open-sided	34.1	50.0
Housing type of pad-cooling flocks	Single layer	55.6	58.9
	More than one layer	44.4	90.0
Number of house in farm	< 3	39.0	50.0
	> 3	61.0	60.9
The least distance between farms	< 100 m	90.2	33.3
	> 100 m	19.8	56.8
The least distance between houses	< 10 m	29.3	61.5
	> 10 m	70.7	53.8
The distance between farm and main road	< 100 m	34.1	50.0
	> 100 m	65.9	59.3
Presence of pond or river near house that is less than 500 m away.	Yes	63.4	53.3
	No	36.6	57.7
Whether or not the houses are separated from the outside by a wall	Yes	51.2	66.7
	No	48.8	32.3
Existence of wires smaller than 2 cm around the houses to prevent wild birds from entering.	Yes	75.6	56.7
	No	24.4	54.5
Locking the entrance of farm	Yes	53.7	45.8
	No	46.3	70.6
Feeding of other animals near the farms that were less than 100 m	Yes	26.9	63.6
	No	73.1	53.3

**Table 11. The hygiene apparatus and control in broiler farms.**

Definition of variables	Level	Flock S+	
		(%)	(%)
Independent dressing room with washing facilities prior entering the broiler house	Yes	63.4	40.0
	No	36.6	65.4
Cleaning the dressing room routinely	Yes	61.0	43.6
	No	39.0	64.0
A <u>storeroom</u> for dead chicken	Yes	35.1	57.1
	No	65.9	55.6
Used the independent cleaning tools in each house	Yes	53.7	50.0
	No	46.3	63.2
Used shoes bath before entering broiler house	Yes	29.3	50.0
	No	70.7	58.6
Used wash facilities clean hand in broiler house	Yes	9.8	50.0
	No	90.2	56.8
Tap-water for farmer used	Yes	53.7	59.1
	No	46.3	68.4
Tap-water for broiler drinking	Yes	17.1	57.1
	No	82.9	55.9
Not Tap-water, but treatment before used	Yes	50.0	41.2
	No	50.0	66.7
Treatments for water of broiler drinking	<u>filtration</u>	47.1	25.0
	disinfectant	52.9	55.6
The source of water for cleaning chicken house	groundwater	73.2	56.7
	Spring water	14.6	66.7
	Tape-water	12.2	40.0



**Table 12. The general controls on broiler farms.**

Definition variables	Level	Flock	S+
		(%)	(%)
The number of people into the house	Only one person	70.7	37.9
	> 1 person	29.3	100
Farmer working in more than one farms	Yes	36.6	46.2
	No	63.4	67.9
Workers will change shoes and clothes before entering into other house	Yes	58.5	45.8
	No	41.5	70.6
To fulfill some procedure when going into a different house.	change clothing	41.5	52.9
	Change shoes	36.6	51.3
	Wash hands	24.4	57.9
	Use Foot bath	39.0	56.3
Working clothes/shoes cleaned daily	Yes	75.6	48.4
	No	24.4	80.0
Rodent control	Yes	95.2	61.5
	No	4.8	100
Extermination measures of rodents are proceeded at least once every season	Yes	58.5	41.7
	No	41.5	76.5
Fly control	Yes	63.4	50.0
	No	36.6	66.7
Cleaning of dogs and cats feces in farm	Yes	44.0	44.0
	No	56.0	81.25



**Table 13. The feeding plans in broiler farms.**

Definition of variables	Level	Flock	S+
		(%)	(%)
Day-old chicks from single breeder farm	Yes	43.9	38.9
	No	56.1	69.6
The kind of cages used for transporting day-old chicks	Plastic cages	90.2	56.8
	cardboard boxes	19.8	33.3
Different source of day-old chick reared in same house	Yes	9.8	75.0
	No	90.2	54.1
Feeds are prepared one week before the new chicks are introduced	Yes	82.9	55.9
	No	17.1	57.1
Removal of moldy or coagulated litter before used	Yes	83.0	50.0
	No	17.0	85.7
Before One-week old which the most chicks became ill or died during broiler rearing period	Yes	61.0	60.0
	No	39.0	50.0
In end of rearing, to clean away litter and faeces on that day	Yes	56.1	52.2
	No	43.9	61.1
Upon house disinfection, new chicks are introduced after 10 days	Yes	29.3	50.0
	No	70.745	58.6

**Table 14. Factors reducing risk for Salmonellae contamination.**

variables	Logistic regression model		
	Odds ratio	95 % CI	<i>p</i> value
Single layer of cooling pad	0.16	0.01-1.65	0.160
Locking the entrance of farm	0.35	0.09-1.32	0.12
Frequently cleaning of canine/feline feces	0.07	0.01-0.58	0.010
Treated drinking water for broilers (non-tap)	0.35	0.09-1.39	0.13
Clean working clothes and shoes daily	0.23	0.04-1.29	0.140

**Table 15. Factors increasing risk for Salmonellae contaminant.**

Variables	Logistic regression model		
	Odds ratio	95 % CI	<i>p</i> value
No wall separation between outside area and the broiler farm	2.44	0.69-8.66	0.16
No independent dressing room with washing facilities prior entering the broiler house	2.83	0.76-10.52	0.11
Single source of day-old chicks	3.59	0.98-13.16	0.05
Removal of moldy or coagulated litter before used	6.00	0.65-55.31	0.110
Using plastic cages to transport day-old chicks	4.17	0.67-26.01	0.170

**Table 16. The Identification result of Salmonellae isolates.**

O sero-group	Type of samples		Total
	Feed	Broiler	
B	3	3	6 (13.6 %)
C2	13	10	23 (41.8 %)
D1	0	2	2
E	9	7	16 (29.1 %)
Un-typable	3	5	8
Total	28	27	55

**Part II. The survey for *Salmonellae* contamination of poultry feeds in Taiwan.**

**Table 17. Positive rates (%) of *Salmonellae* from different locations and feed types and the total positive isolate rate in preliminary study. (Number of positive farms/number of sampled farms)**

Location	Types of feed				Total
	Broiler	Breeder	Layer	Hybrid broiler	
Northern	10/20 (50)	0/3 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	10/23 (43.5)
Central	0/2 (0.0)	1/16 (6.3)	1/3 (33.3)	0/2 (0.0)	2/23 (8.7)
Southern	0/5 (0.0)	1/5 (20)	1/17 (5.9)	1/13 (7.7)	3/40 (7.5)
farm positive rate	10/27 (37.0)	2/30 (6.7)	2/20 (10.0)	1/15(6.7)	15/92 (16.3)

**Table 18. Distribution analysis of sampling feed type and location in preliminary study. (Number of feed samples/farm)**

Location	Types of feed				Total
	Broiler	Breeder	Layer	Hybrid broiler	
Northern	253/20	3/3	-	-	256/23
Central	4/2	34/22	6/3	4/2	48/29
Southern	20/5	9/5	48/17	38/13	115/40
Total	277/27	46/30	54/20	42/15	419/92

**Table 19. Salmonellae isolation rate of different feed brands in preliminary study.**

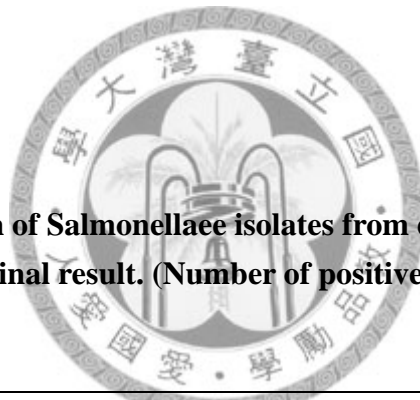
**(Number of positive feeds/number of sampled feeds)**

Feed Brand	Meat-type chick			Breeder	Layer	Total
	broiler	Hybrid broiler	Total			
A	6/117 (5.1%)	1/10 (10.0)	7/127 (5.5%)	1/19 (5.3%)	1/2 (50.0%)	9/148 (6.1%)
B	5/103 (4.9%)	0/0 (0.0%)	5/103 (4.9%)	2/10 (20.0%)	1/17 (5.9%)	8/130 (6.2%)
C	0/19 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/19 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/27 (0.0%)
D	1/24 (4.2%)	0/0 (0.0%)	1/24 (4.2%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	1/24 (4.2%)
E	0/12 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/12 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/2 (0.0%)	0/14 (0.0%)
F	0/2 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/2 (0.0%)	0/12 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/14 (0.0%)
G	0/0 (0.0%)	0/2 (0.0%)	0/2 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/2 (0.0%)
H	0/0 (0.0%)	0/14 (0.0%)	0/14 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/15 (0.0%)	0/29 (0.0%)
I	0/0 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/4 (0.0%)
J	0/0 (0.0%)	0/3 (0.0%)	0/3 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/3 (0.0%)
K	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/6 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/6 (0.0%)
L	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/3 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/3 (0.0%)
M	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/1 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/1 (0.0%)
N	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/10 (0.0%)	0/10 (0.0%)
O	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/0 (0.0%)	0/4 (0.0%)	0/4 (0.0%)
Total	12/277 (4.3%)	1/42 (2.4%)	13/319 (4.1%)	3/46 (6.5%)	2/54 (3.7%)	18/419 (4.3%)



**Table 20. The effectiveness of isolation treatment in preliminary study. ( Isolation rate % )**

Sampling site	Enrichment broth / Plating agar			
	MKTTn/ BPLS	MKTTn/ XLD	RVS/ BPLS	RVS/ XLD
Feed barrels	0/9 (0.0 %)	3/9 (33.3 %)	0/0 (0.0 %)	6/9 (66.7 %)
Feed conveyers	5/7 (71.4 %)	1/7 (14.3%)	0/0 (0.0 %)	1/7 (14.3%)
Feed troughs	0/4 (0%)	1/4 (25.0%)	0/0 (0.0 %)	3/4 (75.0%)
Total of Isolation rate	5/20 (25.0%)	5/20 (25.0%)	0/0 (0.0 %)	10/20 (50.0%)



**Table 21. The distribution of Salmonellae isolates from different kinds of feed samples and localities in final result. (Number of positive farms/number of sampled farms)**

Location	Type of feeds				Total
	Broiler	Breeder	Layer	Hybrid broiler	
Northern	14/41 (34.1 %)	0/1 (0.0 %)	-	-	14/42 (33.3 %)
Central	0/10 (0.0 %)	10/18 (55.6 %)	0/3 (0.0 %)	2/3 (66.7 %)	12/34 (35.3 %)
Southern	0/6 (0.0 %)	1/7 (14.3 %)	3/17 (17.6 %)	1/15 (6.7 %)	5/45 (11.1 %)
Eastern	0/8 (0.0 %)	-	-	2/27 (7.4 %)	2/35 (5.7 %)
Positive of flock	14/65 (21.5 %)	11/26 (42.3 %)	3/20 (15.0 %)	5/45 (11.1 %)	33/154 (21.4 %)

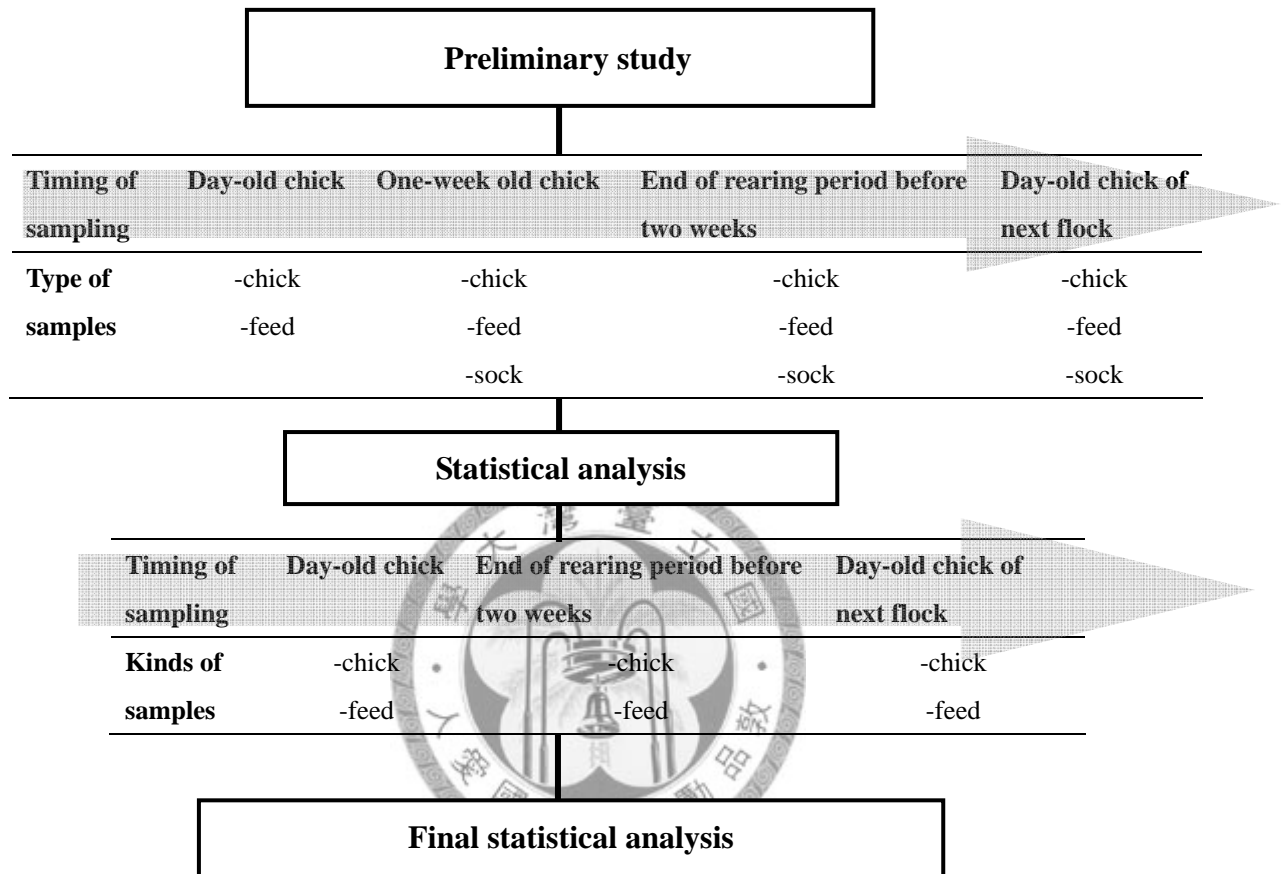
**Table 22. The frequencies of Salmonellae strains isolated from different sampling sites.  
(Number of positive feeds /number of sampled feeds)**

Type of chicken	Sampling sites of feed			Total
	Feed barrels	Feed conveyers	Feed troughs	
Broiler	10/154 (6.5 %)	5/144 (3.5 %)	17/158 (10.8 %)	32/456 (7.0 %)
Hybrid broiler	2/36 (5.6 %)	3/31 (9.7 %)	2/38 (5.3 %)	7/105 (6.7 %)
Breeder	8/84 (9.5 %)	3/18 (16.7 %)	5/61 (8.2 %)	16/163 (9.8 %)
Layer	2/26 (7.7 %)	1/5 (20.0 %)	1/23 (4.3 %)	4/54 (7.4 %)
Total	22/300 (7.3 %)	12/198 (6.1 %)	25/280 (8.9 %)	59/778 (7.6 %)

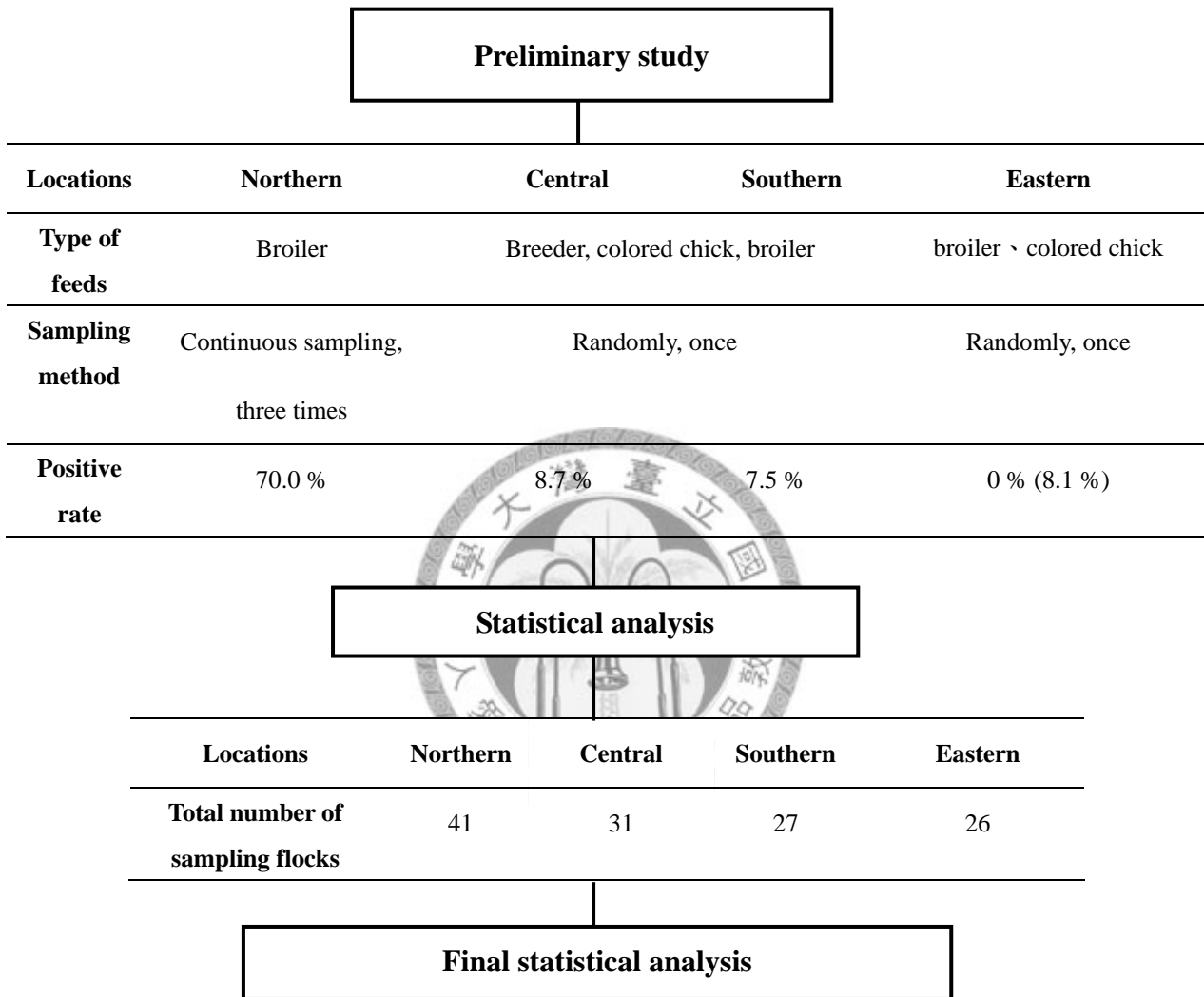
**Table 23. Identification of serotype of Salmonellae strains from poultry feeds.**

Sero-group	Type of feeds			Total
	Breeder	Broiler	Others	
B	3	1	3	7
C1	0	2	1	3
C2	13	4	5	22
D1	0	2	0	2
E1	5	1	0	6
E2	0	1	0	1
E3	1	0	0	1
E4	3	1	0	4
Un-typable	3	7	3	13
Total	28	19	12	59

**Fig 1. The experiment design flow chart of “The identification of risk factors for Salmonellae contamination in broiler farms in northern Taiwan”**



**Fig 2. Experimental design flow chart of the study of “the survey for Salmonellae contamination of poultry feeds in Taiwan”**



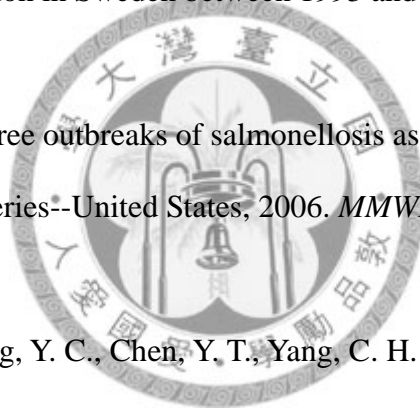
## 參考文獻

1. 王裕智。臺灣屠體沙門氏桿菌流行病學及抗藥性研究。碩士論文，中興大學獸醫公共衛生學研究所，臺中，臺灣。2004。
2. 向璧鴻。臺灣地區鴨隻沙氏桿菌、彎曲桿菌盛行率暨葯物感受性調查。碩士論文，臺灣大學獸醫學研究所，臺北，臺灣。2001。
3. 行政院農業委員會。農業產銷工作手冊。臺北，臺灣；1994年:90。
4. 李宗賢。臺灣沙門氏桿菌症的流行病學:由環境、食用豬畜產品到人。碩士論文，中興大學獸醫公共衛生學研究所，臺中，臺灣。2006。
5. 廖志偉。臺灣中部地區流浪犬及家犬沙門氏桿菌感染之研究。碩士論文，中興大學獸醫公共衛生學研究所，臺中，臺灣。2007。
6. 郭俊緯。傳統市場與屠宰場仿土雞沙門氏桿菌污染之調查研究。碩士論文，中興大學獸醫病理學研究所，臺中，臺灣。2006。
7. 陳怡君。沙門氏桿菌抗藥性基因型之分析。碩士論文，屏東科技大學獸醫學系所，屏東，臺灣。2007。
8. 陳秀芬。以脈衝式電泳分析犬沙門氏桿菌之流行病學研究。碩士論文，屏東科技大學獸醫學系所，屏東，臺灣。2007。
9. 陳俊宇。臺灣地區爬蟲類寵物沙門氏桿菌感染之流行病學研究。碩士論文，中興大學獸醫公共衛生學研究所，臺中，臺灣。2005。
10. 蔡宇馨。中部地區產蛋雞與帶殼蛋之沙門氏桿菌監測調查。碩士論文，中興大學獸醫公共衛生學研究所，臺中，臺灣。2007。
11. 蔡文城。實用臨床微生物診斷學。臺北；九州圖書文物有限公司；2006年:707-708。
12. 沈添富。家禽的營養與需要。畜牧要覽家禽篇(增修版)。中國畜牧學會。臺北，臺灣；2001年:167。
13. Aarestrup, F. M., Hendriksen, R. S., Lockett, J. & other authors (2007).

International spread of multidrug-resistant *Salmonellae* Schwarzengrund in food products. *Emerg Infect Dis* 13, 726-731.

14. Ahmer, B. M., Tran, M. & Heffron, F. (1999). The virulence plasmid of *Salmonellae typhimurium* is self-transmissible. *J Bacteriol* 181, 1364-1368.
15. Amavisit, P., Lightfoot, D., Browning, G. F. & Markham, P. F. (2003). Variation between pathogenic serovars within *Salmonellae* pathogenicity islands. *J Bacteriol* 185, 3624-3635.
16. Altekrose, S. F., Bauer, N., Chanlongbutra, A., DeSagun, R., Naugle, A., Schlosser, W., Umholtz, R. & White, P. (2006). *Salmonellae enteritidis* in broiler chickens, United States, 2000-2005. *Emerg Infect Dis* 12, 1848-1852.
17. Alvarez, J., Porwollik, S., Laconcha, I. & other authors (2003). Detection of a *Salmonellae enterica* serovar California strain spreading in spanish feed mills and genetic characterization with DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol* 69, 7531-7534.
18. Angen, O., Skov, MN., Chriel, M., Agger, JF., Bisgaard M. (1996). A retrospective study on *Salmonellae* infection in Danish broiler flocks. *Prev Vet Med* 26, 223-237.
19. Arsenault, J., Letellier, A., Quessy, S., Normand, V. & Boulianne, M. (2007). Prevalence and risk factors for *Salmonellae* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Prev Vet Med* 81, 250-264.
20. Asai, T., Ishihara K., Harada K., Kojima A., Tamura Y., Sato S., Takahashi T. (2007). Long-term prevalence of antimicrobial-resistant *Salmonellae enterica* subspecies *enterica* serovar *Infantis* in the broiler chicken industry in Japan. *Microbiol Immunol* 51, 111-115
21. Bhargava KK, O'Neil JB, Prior MG, Dunkelgod KE.(1983). Incidence of

- Salmonellae contamination in broiler chickens in Saskatchewan. *Can J Comp Med.* 47,27-32.
22. Baumber, A. J., Hargis, B. M. & Tsois, R. M. (2000). Tracing the origins of Salmonellae outbreaks. *Science* 287, 50-52.
  23. Blanc-Potard, A. B., Solomon, F., Kayser, J. & Groisman, E. A. (1999). The SPI-3 pathogenicity island of Salmonellae enterica. *J Bacteriol* 181, 998-1004.
  24. Boqvist, S., Hansson, I., Nord Bjerselius, U., Hamilton, C., Wahlstrom, H., Noll, B., Tysen, E. & Engvall, A. (2003). Salmonellae isolated from animals and feed production in Sweden between 1993 and 1997. *Acta Vet Scand* 44, 181-197.
  25. (CDC, 2007). Three outbreaks of salmonellosis associated with baby poultry from three hatcheries--United States, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 56, 273-276.
  26. Chen, T. H., Wang, Y. C., Chen, Y. T., Yang, C. H. & Yeh, K. S. (2006). Serotype occurrence and antimicrobial susceptibility of Salmonellae isolates recovered from pork carcasses in Taiwan (2000 through 2003). *J Food Prot* 69, 674-678.
  27. Chittick, P., Sulka, A., Tauxe, R. V. & Fry, A. M. (2006). A summary of national reports of foodborne outbreaks of Salmonellae Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention. *J Food Prot* 69, 1150-1153.
  28. Cogan, T. A. & Humphrey, T. J. (2003). The rise and fall of Salmonellae Enteritidis in the UK. *J Appl Microbiol* 94 Suppl, 114S-119S.
  29. Collazo, C. M. & Galan, J. E. (1997). The invasion-associated type-III protein secretion system in Salmonellae--a review. *Gene* 192, 51-59.
  30. Cardinale, E., Tall, F., Gueye, E. F., Cisse, M. & Salvat, G. (2004). Risk



- factors for *Salmonellae enterica* subsp. *enterica* infection in senegalese broiler-chicken flocks. *Prev Vet Med* 63, 151-161.
31. Cardinale, E., Perrier Gros-Claude, J. D., Rivoal, K., Rose, V., Tall, F., Mead, G. C. & Salvat, G. (2005). Epidemiological analysis of *Salmonellae enterica* ssp. *enterica* serovars Hadar, Brancaster and Enteritidis from humans and broiler chickens in Senegal using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility. *J Appl Microbiol* 99, 968-977.
32. Carr, L. E., Mallinson, E. T., Tate, C. R., Miller, R. G., Russek-Cohen, E., Stewart, L. E., Opara, O. O. & Joseph, S. W. (1995). Prevalence of *Salmonellae* in broiler flocks: effect of litter water activity, house construction, and watering devices. *Avian Dis* 39, 39-44.
33. Chadfield, M., Skov, M., Christensen, J., Madsen, M., Bisgaard, M., (2001). An epidemiological study of *Salmonellae enterica* serovar 4, 12:b: in broiler chicken in Denmark. *Vet. Microbiol.* 82 (3), 233-247.
34. Chambers, J.R., Bisailon, J.R., Labbe, Y., Poppe, C., Langford, C.F., (1998). *Salmonellae* prevalence in crops of Ontario and Quebec broiler chicken at slaughter. *Poult. Sci.* 77, 1497-1501.
35. Cheong, H. J., Lee, Y. J., Hwang, I. S. & other authors (2007). Characteristics of non-typhoidal *Salmonellae* isolates from human and broiler-chickens in southwestern Seoul, Korea. *J Korean Med Sci* 22, 773-778.
36. Craven, S. E., Stern, N. J., Line, E., Bailey, J. S., Cox, N. A. & Fedorka-Cray, P. (2000). Determination of the incidence of *Salmonellae* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in wild birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian Dis* 44, 715-720.
37. Crump, J. A., Griffin, P. M. & Angulo, F. J. (2002). Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. *Clin Infect Dis*



- 35, 859-865.
38. Davies, R.H., Nicholas, R.A.J., McLaren, I.M., Corkish, J.D., Lanning, D.G., Wray, C., (1997). Bacteriological and serological investigation of persistent *Salmonellae enteritidis* infection in an integrated poultry organisation. *Vet. Microbiol.* 58 (2-4), 277-293.
39. Davies, R., Breslin, M., Corry, J.E., Hudson, W., Allen, V.M., (2001). Observations on the distribution and control of *Salmonellae* species in two integrated broiler companies. *Vet. Rec.* 149 (8), 227-232.
40. Davies, R. H. & Wray, C. (1997). Distribution of Salmonellae contamination in ten animal feedmills. *Vet Microbiol* 57, 159-169.
41. Durand, A. M., Giesecke, W. H., Barnard, M. L., van der Walt, M. L. & Steyn, H. C. (1990). Salmonellae isolated from feeds and feed ingredients during the period 1982-1988: animal and public health implications. *Onderstepoort J Vet Res* 57, 175-181.
42. (FDA, 1994). FDA clarifies policy on Salmonellae in feed, holds workshop on anti-Salmonellae additives. *J Am Vet Med Assoc* 205, 1088.
43. de Jong, B. & Ekdahl, K. (2006). The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *BMC Public Health* 6, 4.
44. Eriksson, J., Lofstrom, C., Aspan, A., Gunnarsson, A., Karlsson, I., Borch, E., de Jong, B. & Radstrom, P. (2005). Comparison of genotyping methods by application to Salmonellae livingstone strains associated with an outbreak of human salmonellosis. *Int J Food Microbiol* 104, 93-103.
45. Fris, C. & van den Bos, J. (1995). A retrospective case-control study of risk factors associated with Salmonellae enterica subsp. Enterica serovar Enteritidis infections on Dutch broiler breeder farms. *Avian Pathol* 24,

255-272.

46. Foley, S. L. & Lynne, A. M. (2007). Food animal-associated Salmonellae challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *J Anim Sci*.
47. Foley, S. L., Lynne, A. M. & Nayak, R. (2007). Salmonellae challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *J Anim Sci*.
48. Gast, R. K., Guard-Bouldin, J. & Holt, P. S. (2004). Colonization of reproductive organs and internal contamination of eggs after experimental infection of laying hens with Salmonellae heidelberg and Salmonellae enteritidis. *Avian Dis* 48, 863-869.
49. Gast, R. K., Guard-Bouldin, J. & Holt, P. S. (2005). The relationship between the duration of fecal shedding and the production of contaminated eggs by laying hens infected with strains of Salmonellae enteritidis and Salmonellae Heidelberg. *Avian Dis* 49, 382-386.
50. Gradel, K. O. & Rattenborg, E. (2003). A questionnaire-based, retrospective field study of persistence of Salmonellae Enteritidis and Salmonellae Typhimurium in Danish broiler houses. *Prev Vet Med* 56, 267-284.
51. Giurov, B. & Vodas, K. (1987). [Potential manifestation of fowl typhoid in chicks fed Salmonellae gallinarum-contaminated feed]. *Vet Med Nauki* 24, 33-37.
52. Gupta, S., Maiden, M. C., Feavers, I. M., Nee, S., May, R. M. & Anderson, R. M. (1996). The maintenance of strain structure in populations of recombining infectious agents. *Nat Med* 2, 437-442.
53. Hall, P., Barr, K. & Lacey, R. W. (1990). Failure of Salkil to eliminate Salmonellae from chicken feed. *Vet Rec* 126, 297.
54. Hansen-Wester, I. & Hensel, M. (2001). Salmonellae pathogenicity islands

encoding type III secretion systems. *Microbes Infect* 3, 549-559.

55. Hedberg, C. W., Angulo, F. J., White, K. E. & other authors (1999). Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: implications for public health. The Investigation Team. *Epidemiol Infect* 122, 385-393.
56. Himathongkham, S., Pereira, M. G. & Riemann, H. (1996). Heat destruction of Salmonellae in poultry feed: effect of time, temperature, and moisture. *Avian Dis* 40, 72-77.
57. Hinton, M. & Linton, A. H. (1988). Control of Salmonellae infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed. *Vet Rec* 123, 416-421.
58. Hinton, M. H. (2000). Infections and intoxications associated with animal feed and forage which may present a hazard to human health. *Vet J* 159, 124-138.
59. Hoszowski, A. & Truszczynski, M. (1995). Choice of the optimal method for the isolation of Salmonellae from meat- and bone powder designed for industrial feed mixtures. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 18, 227-237.
60. Hsu, F. S., Chuech, L. L. & Shen, Y. M. (1983). Isolation, serotyping and drug resistance of Salmonellae in scouring pigs in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi* 16, 283-290.
61. Hummel, P. H., Su, J. F., Chiu, T. C. & Chen, Y. S. (1978). Survey of Salmonellae in mesenteric lymph nodes, gallbladder wall and jejunum from healthy pigs slaughtered in Taiwan. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Xue Za Zhi* 11, 93-98.
62. Kennedy, M., Villar, R., Vugia, D. J. & other authors (2004). Hospitalizations and deaths due to Salmonellae infections, FoodNet, 1996-1999. *Clin Infect Dis* 38 Suppl 3, S142-148.
63. Kangas, S., Lyytikainen, T., Peltola, J., Ranta, J. & Maijala, R. (2007). Costs

- of two alternative Salmonellae control policies in Finnish broiler production. *Acta Vet Scand* 49, 35.
64. Kim, A., Lee, Y. J., Kang, M. S., Kwag, S. I. & Cho, J. K. (2007). Dissemination and tracking of Salmonellae spp. in integrated broiler operation. *J Vet Sci* 8, 155-161.
65. Koyuncu, S. and P. Haggblom (2009). A comparative study of cultural methods for the detection of Salmonellae in feed and feed ingredients. *BMC Vet Res* 5: 6.
66. Limawongpranee, S., Hayashidani, H., Okatani, A. T., Ono, K., Hirota, C., Kaneko, K. & Ogawa, M. (1999). Prevalence and persistence of Salmonellae in broiler chicken flocks. *J Vet Med Sci* 61, 255-259.
67. Lauderdale, T. L., Aarestrup, F. M., Chen, P. C., Lai, J. F., Wang, H. Y., Shiau, Y. R., Huang, I. W. & Hung, C. L. (2006). Multidrug resistance among different serotypes of clinical Salmonellae isolates in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 55, 149-155.
68. Limawongpranee, S., Hayashidani, H., Okatani, A. T., Ono, K., Hirota, C., Kaneko, K. & Ogawa, M. (1999). Prevalence and persistence of Salmonellae in broiler chicken flocks. *J Vet Med Sci* 61, 255-259.
69. Lofstrom, C., R. Knutsson, et al. (2004). Rapid and specific detection of Salmonellae spp. in animal feed samples by PCR after culture enrichment. *Appl Environ Microbiol* 70(1): 69-75.
70. Jones, F. T. & Richardson, K. E. (2004). Salmonellae in commercially manufactured feeds. *Poult Sci* 83, 384-391.
71. June, G. A., Sherrod, P. S., Hammack, T. S., Amaguana, R. M. & Andrews, W. H. (1996). Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and rappaport-vassiliadis medium for recovery of Salmonellae spp. from raw

- flesh, highly contaminated foods, and poultry feed: collaborative study. *J AOAC Int* 79, 1307-1323.
72. Muller, K. H., Collinson, S. K., Trust, T. J. & Kay, W. W. (1991). Type 1 fimbriae of *Salmonellae enteritidis*. *J Bacteriol* 173, 4765-4772.
73. Murase, T., Fujimoto, K., Nakayama, R. & Otsuki, K. (2006). Multiplication and motility of *Salmonellae enterica* serovars *enteritidis*, *infantis*, and *montevideo* in in vitro contamination models of eggs. *J Food Prot* 69, 1012-1016.
74. Nespeca, R., Vaillancourt, J. P. & Morrow, W. E. (1997). Validation of a poultry biosecurity survey. *Prev Vet Med* 31, 73-86.
75. Nogrady, N., Toth, A., Kostyak, A., Paszti, J. & Nagy, B. (2007). Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonellae Infantis* in broiler chickens and humans in Hungary. *J Antimicrob Chemother* 60, 645-648.
76. Peng, C. F. (1992). Incidence and antimicrobial resistance of *Salmonellae* serotypes in southern Taiwan from 1978 through 1987. *Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi* 8, 247-254.
77. Poppe, C., Irwin, R. J., Messier, S., Finley, G. G. & Oggel, J. (1991). The prevalence of *Salmonellae enteritidis* and other *Salmonellae* sp. among Canadian registered commercial chicken broiler flocks. *Epidemiol Infect* 107, 201-211.
78. Poppe, C., Irwin, R. J., Forsberg, C. M., Clarke, R. C. & Oggel, J. (1991a). The prevalence of *Salmonellae enteritidis* and other *Salmonellae* spp. among Canadian registered commercial layer flocks. *Epidemiol Infect* 106, 259-270.
79. Poppe, C., Irwin, R. J., Messier, S., Finley, G. G. & Oggel, J. (1991b). The prevalence of *Salmonellae enteritidis* and other *Salmonellae* sp. among Canadian registered commercial chicken broiler flocks. *Epidemiol Infect* 107,

201-211.

80. Rose, N., Beaudeau, F., Drouin, P., Toux, J. Y., Rose, V. & Colin, P. (1999). Risk factors for *Salmonellae enterica* subsp. *enterica* contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prev Vet Med* 39, 265-277.
81. Rabsch, W., Hargis, B. M., Tsois, R. M., Kingsley, R. A., Hinz, K. H., Tschape, H. & Baumler, A. J. (2000). Competitive exclusion of *Salmonellae enteritidis* by *Salmonellae gallinarum* in poultry. *Emerg Infect Dis* 6, 443-448.
82. Slader, J., Domingue, G., Jorgensen, F., McAlpine, K., Owen, R. J., Bolton, F. J. & Humphrey, T. J. (2002). Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonellae* contamination of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 68, 713-719.
83. Shea, J. E., Hensel, M., Gleeson, C. & Holden, D. W. (1996). Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in *Salmonellae typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 2593-2597.
84. Tsai, H. J. & Hsiang, P. H. (2005). The prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Salmonellae* and *Campylobacter* in ducks in Taiwan. *J Vet Med Sci* 67, 7-12.
85. Tsai, H. J., Huang, H. C., Lin, C. M., Lien, Y. Y. & Chou, C. H. (2007). *Salmonellae* and *campylobacters* in household and stray dogs in northern Taiwan. *Vet Res Commun* 31, 931-939.
86. Jacobs-Reitsma, W. F., Bolder, N. M. & Mulder, R. W. (1994). Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonellae* in Dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. *Poult Sci* 73, 1260-1266.
87. Jones, F. T. & Richardson, K. E. (2004). *Salmonellae* in commercially manufactured feeds. *Poult Sci* 83, 384-391.

88. June, G. A., Sherrod, P. S., Hammack, T. S., Amaguana, R. M. & Andrews, W. H. (1996). Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and rappaport-vassiliadis medium for recovery of *Salmonellae* spp. from raw flesh, highly contaminated foods, and poultry feed: collaborative study. *J AOAC Int* 79, 1307-1323.
89. Lound, L., Tanaro, J., De Antoni, G., Ledri, S., Gomez, M. B., Schimpf, M., Cazaux, N. & De Gracia, L. (1998). [Salmonellae: comparison of methods for its detection in bird feed]. *Rev Argent Microbiol* 30, 180-184.
90. Muhlenberg, W. (1992). Chicken feed contaminated with *Salmonellae* enteritidis in a small egg-producing farm as source of a chain of infection in man--problems in tracing the mode of transmission. *Gesundheitswesen* 54, 127-134.
91. Nakamura, M., Nagamine, N., Takahashi, T., Norimatsu, M., Suzuki, S. & Sato, S. (1995). Intratracheal infection of chickens with *Salmonellae* enteritidis and the effect of feed and water deprivation. *Avian Dis* 39, 853-858.
92. Rouse, J., Rolow, A. & Nelson, C. E. (1988). Effect of chemical treatment of poultry feed on survival of *Salmonellae*. *Poult Sci* 67, 1225-1228.
93. S. Valkenburgh, R. van Oosterom, O. Stenvers, M. Aalten, M. Braks, B. Schimmer, A. van de Giessen, W. van Pelt, M. (2007). *Langelaar Zoonoses and Zoonotic Agents in Humans, Food, Animals and Feed in the Netherlands 2003-2006. RIVM-rapportnummer: 330152001 ISBN-13: 978-90-6960-184-7*
94. Sadeyen, J. R., Trotereau, J., Velge, P., Marly, J., Beaumont, C., Barrow, P. A., Bumstead, N. & Lalmanach, A. C. (2004). *Salmonellae* carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes Infect* 6, 1278-1286.

95. Schotte, U., Borchers, D., Wulff, C. & Geue, L. (2007). *Salmonellae* Montevideo outbreak in military kennel dogs caused by contaminated commercial feed, which was only recognized through monitoring. *Vet Microbiol* 119, 316-323.
96. Shirota, K., Katoh, H., Ito, T. & Otsuki, K. (2000). *Salmonellae* contamination in commercial layer feed in Japan. *J Vet Med Sci* 62, 789-791.
97. Shirota, K., Katoh, H., Murase, T., Ito, T. & Otsuki, K. (2001). Monitoring of layer feed and eggs for *Salmonellae* in eastern Japan between 1993 and 1998. *J Food Prot* 64, 734-737.
98. Turcotte, C. & Woodward, M. J. (1993). Cloning, DNA nucleotide sequence and distribution of the gene encoding the SEF14 fimbrial antigen of *Salmonellae enteritidis*. *J Gen Microbiol* 139, 1477-1485.
99. van Asten, A. J. & van Dijk, J. E. (2005). Distribution of classic virulence factors among *Salmonellae* spp. *FEMS Immunol Med Microbiol* 44, 251-259.
100. Velge, P., Cloeckaert, A. & Barrow, P. (2005). Emergence of *Salmonellae* epidemics: the problems related to *Salmonellae enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Vet Res* 36, 267-288.
101. Vugia, D. J., Samuel, M., Farley, M. M., Marcus, R., Shiferaw, B., Shallow, S., Smith, K. & Angulo, F. J. (2004). Invasive *Salmonellae* infections in the United States, FoodNet, 1996-1999: incidence, serotype distribution, and outcome. *Clin Infect Dis* 38 Suppl 3, S149-156.



## 附錄一、家禽場之飼養管理與感染沙門氏桿菌之風險因子問卷

調查志工: \_\_\_\_\_

日期: \_\_\_\_年\_\_\_\_月\_\_\_\_日

家禽場基本資料			
場主姓名		雞場地址 聯絡電話	
白肉雞之品種		採樣場總坪數	□□□坪
採樣雞群之飼養時間	進雞 97 年□□月□□日 出雞 97 年□□月□□日	採樣雞舍坪數	□□□坪
採樣雞舍之飼養數量	□□□□□隻(進雞量) □□□□□隻(出雞量)	採樣場之飼養數量	□□□□□隻(進雞量) □□□□□隻(出雞量)
下批雞入雞時間預定為：97 年□□月□□日		<b>使用之飼料品牌與品名</b>	
<b>使用疫苗或藥品之名稱與使用時機</b>		<b>雞場有無保存飼養紀錄</b>	
1. _____, _____		<input type="checkbox"/> 有，內容包含 <input type="checkbox"/> 死亡、淘汰情形 <input type="checkbox"/> 投藥 <input type="checkbox"/> 防疫計劃(投藥、疫苗) <input type="checkbox"/> 飼料來源與使用量 <input type="checkbox"/> 批次生產情形  <input type="checkbox"/> 無	
2. _____, _____			
3. _____, _____			
4. _____, _____			
5. _____, _____			

### A. 雞場之基本環境背景

1. 雞舍場所係  自有     租用  
已使用期間□□年□□月
  
2. 目前該雞場共養有白肉雞□□□□□隻，養雞工人□□□人，雞舍□□間
  
3. 您的雞舍屬於何種型式  
 開放式  
 水簾式，一層     水簾式，兩層

4. 您的雞場與最近一處雞場之距離為
- 100 公尺以內
- 100 公尺~300 公尺
- 300 公尺以上
5. 您的雞場內，雞舍與雞舍間的距離最少為
- 10 公尺以內
- 10~100 公尺以內
- 100 公尺以上
6. 您的雞場與通往外面主要道路（非產業道路）之距離
- 100 公尺以內                       100 公尺~300 公尺
- 300 公尺以上
7. 您的雞舍附近 500 公尺以內是否有池塘或河流
- 是               否
8. 您的雞場是否具有圍牆與外界隔離
- 否
- 是，圍牆種類為\_\_\_\_\_
9. 雞舍外圍是否具有小於 2 公分的鐵絲網以杜絕野禽進入
- 是               否
10. 雞場入口是否具有需以鑰匙開啟之門鎖
- 是               否
11. 雞場附近（100 公尺內）是否同時畜養其他牲畜？
- 是               否
12. 承上題，飼養種類為
- 牛               豬               其他\_\_\_\_\_
13. 雞場內是否畜養下列動物於
- (1) 犬  是，數量\_\_\_\_\_  否
- (2) 貓  是，數量\_\_\_\_\_  否
- (3) 鸚鵡  是，數量\_\_\_\_\_  否



- (4) 鴿子 是，數量\_\_\_\_\_ 否  
(5) 其他鳥類 是，種類\_\_\_\_\_數量\_\_\_\_\_ 否

14. 上述動物與雞隻是否有接觸的機會  
是，如何接觸\_\_\_\_\_ 否

15. 是否會清掃犬貓之糞便  
是 否

16. 雞舍門平常是否關閉  
是 否

17. 每日固定進出該雞舍人數約  
一人 二人 三人 三人以上

18. 每個工人所照顧的雞舍數量約間，最近是否有因衛生、防疫等因素改變？  
是，自年月開始至今  
否

19. 工作人員是否須在一個以上的雞場工作  
是 否



### **B. 雞舍之衛生設備與管理**

20. 工作服/鞋的清潔頻率為  
每天換洗 每週換洗 每月換洗 髒了再洗

21. 雞舍是否具備防止老鼠進入之設備  
是，種類\_\_\_\_\_ 否

22. 進入雞舍前是否有一獨立之室內空間可供更換工作服與清潔手部  
是 否

23. 承上題，此室內空間是否定期清掃  
是 否

24. 雞場內是否有專用儲藏室供存放斃死之雞隻  
是 否
25. 承上題，此儲藏室是否具有防鼠防蟲之設施  
是 否
26. 工作人員若有穿著工作服與工作鞋，是否於進出不同雞舍時會更換  
是 否
27. 經常使用的工具，例如清潔用的掃把畚斗等，是否於各雞舍皆有專用的而不互相通用  
是 否
28. 工作人員用水是否為自來水  
是  
否，使用的消毒劑與濃度為\_\_\_\_\_
29. 雞隻飲水是否為自來水  
是  
否，有無處理 是：過濾，廠牌\_\_\_\_\_ 消毒劑廠牌與濃度為\_\_\_\_\_  
否
30. 雞舍入口前是否具有鞋浴池  
是 否
31. 雞舍內是否具有手部消毒設備  
是 否
32. 出雞後，墊料與糞便是否立即清運  
是，當天移出  
否，於出雞後第\_\_\_\_\_天出雞後
33. 雞場是否具有滅鼠之措施  
否  
是，毒餌 捕鼠器 其他\_\_\_\_\_

34. 消滅鼠害實施頻率

- 每週至少一次      每月至少一次      每三個月至少一次  
每半年至少一次      每年至少一次      不一定

35. 是否定期消滅蒼蠅害蟲

- 是      否

36. 進入雞舍前是否完成下列事項？請勾選

- 換穿工作服      換穿雨鞋/工作長靴      使用手部消毒器或洗手  
使用鞋浴器      更換工作帽      其他\_\_\_\_\_

37. 在進出不同雞舍前（從甲雞舍到乙雞舍）是否完成下列事項？請勾選

- 換穿工作服      換穿雨鞋/工作長靴  
使用手部消毒器或洗手      使用鞋浴消毒池

38. 入雞前是否先清洗消毒雞舍

- 是      否

39. 承上題，使用的水源為

- 地下水      自來水      其他\_\_\_\_\_

40. 承上題，清洗消毒雞舍使用的水是否添加消毒劑

- 是，使用(可複選): 碘劑、氯劑、其他\_\_\_\_\_  
否

41. 承上題，消毒雞舍尚包括其他的方法

- 是(可複選): 火焰、福馬林煙燻、其他\_\_\_\_\_

42. 進雞前室否消毒雞舍

- 是      否

43. 承上題，消毒區域包括

- 地板      天花板      牆面      飼料槽  
飲水器      鞋浴池      風扇或排氣窗      其他\_\_\_\_\_

44. 儲存飼料之場所與最近之雞舍之距離

- 100 公尺內      大於 100 公尺      大於 500 公尺

45. 飼料桶或飼料儲存場所之溫度與濕度是否經調控

是, 溫度\_\_\_\_°C 濕度\_\_\_\_ % 否

46. 雞用飲水是否經過特殊處理或添加物質

是, 添加\_\_\_\_\_

否

47. 雞場內之廢棄物(墊料, 死雞等)是否每天清運, 並移出雞場內

是 否

### C. 飼養計畫

48. 雞場內所有雞隻是否統進統出

是 否

49. 雞雞來源為

只有一個來源, 種雞場名稱: \_\_\_\_\_

一個以上種雞場來源, 但有固定供應商, 供應商名字為: \_\_\_\_\_

完全無固定供應商

50. 該批雞雞運送至雞舍時所使用的容器為

塑膠籠 紙箱 其他\_\_\_\_\_

51. 雞舍完成清潔消毒後間隔多久會再進雞\_\_\_\_\_天

52. 目前該雞場之飼料換肉率為: .:1

最近一年有無改變? 無

有, 變差變好

53. 若有改變, 您懷疑的原因是:雞雞來源 衛生環境 飼料品質 疾病

其他\_\_\_\_\_

54. 進雞前多久會先買好飼料

一週內 一個禮拜前 使用先前買好的儲藏飼料

其他\_\_\_\_\_

55. 是否將不同來源之雛雞飼養於同一棟雞舍

是 否

56. 目前該雞場每批雞之飼養天數約□□~□□天

57. 於飼養的哪個階段最容易有雞因生病或死亡而淘汰

入雞一週內 疫苗施打後  
出雞前兩週 其他\_\_\_\_\_

58. 當死亡率高於\_\_\_\_\_ %時是否會懷疑疾病或環境因素

59. 場內有不合理之死亡或發病數發生時之第一處理方式

用藥，藥品名與劑量\_\_\_\_\_  
自行剖檢 取樣送檢  
找飼料場或疫苗公司服務人員來幫忙處理  
找特約獸醫師來幫忙處理  
其他\_\_\_\_\_

60. 每次進料至該批飼料吃完的時間大約(幼雞/成雞)

一週內 兩週內  
一個月內 一個月以上

61. 墊料的厚度，約\_\_\_\_\_公分深

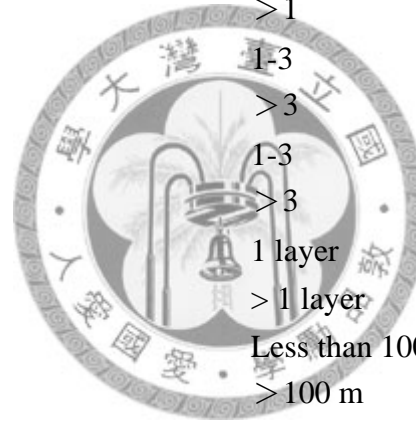
62. 使用前是否先移除發霉或結塊的墊料

是 否



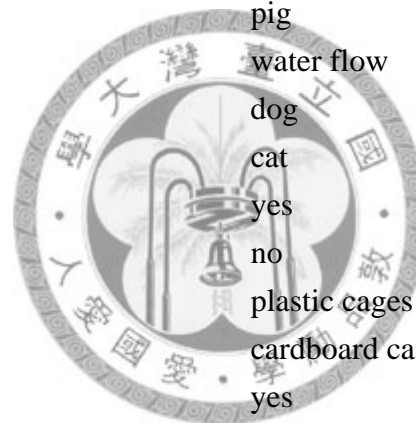
附錄二、白肉雞場污染沙門氏桿菌之風險因子分析結果

Variables	Level	Odds ratio	95 % CI		p value	F-two tail
			low	up		
The ownership of farm	farmer	0.63	0.14	2.71	0.53	0.710
	rented					
The number of workers	1	0.42	0.11	1.63	0.20	0.320
	> 1					
The number of houses per farm	1-3	0.64	0.18	2.33	0.50	0.530
	> 3					
Each worker correspond with number of farm	1-3	0.48	0.07	3.21	.	0.640
	> 3					
The pad cooling system housing type	1 layer	0.16	0.01	1.65	.	0.160
	> 1 layer					
The distance between different farms	Less than 100 m	0.38	0.03	4.58	.	0.580
	> 100 m					
The distance between different houses	Less than 10 m	1.37	0.36	5.27	0.65	0.740
	>10 m					
The distance between main road	Less than 100 m	0.56	0.15	2.12	0.39	0.500
	More than 100 m					
Lakes or rivers nearby the farms (less than 500 m)	yes	0.84	0.23	3.01	0.79	1.000
	no					
Separated from outside by walls	no	2.44	0.69	8.66	0.16	0.210





	yes					
Protected from mixed with wild birds by wire netting (less than 2 cm)	yes	1.09	0.27	4.37	.	1.000
	no					
The entrance is locked	yes	0.35	0.09	1.32	0.12	0.200
	no					
Present of other domestic animals (less than 100 m)	yes	1.53	0.37	6.35	.	0.730
	no					
Type of domestic animal nearby the farm	pig	0.50	0.03	8.95	.	1.000
	water flow					
Company animal in farms	dog	1.14	0.27	4.79	.	1.000
	cat					
Remove the dog/cat feces	yes	0.07	0.01	0.58	0.00	0.010
	no					
Type of container for shipping chicken	plastic cages	4.17	0.67	26.01		0.170
	cardboard cases					
Equipment for avoid mouse to enter	yes	0.73	0.21	2.53	0.62	0.760
	no					
A dressing room with washing facilities for workers before entering the farms	yes	2.83	0.76	10.52	0.11	0.190
	no					
The space has been routinely cleaned	yes	0.00	0.00			1.000
	no					
A room for collection of dead chickens	yes	1.07	0.29	3.92	0.92	1.000



	no					
Workers will change shoe clots and clothing before entering into other farms	yes	1.04	0.30	3.60	1.00	1.000
	no					
Each house has independent set of tools	yes	0.58	0.17	2.04	0.40	0.530
	no					
Usage of tape-water or sterilized water	yes	0.87	0.25	3.01	0.82	1.000
	no					
Tape-water for drinking	yes	1.50	0.29	7.74		0.700
	no					
Non-tape-water for drinking, but treated	yes	.35	.09	1.39	.13	.18
	no					
Treat with	filtered	.27	.03	2.16		.33
	sterilized					
foot bath was set in entrance of houses	yes	.71	.18	2.73	.61	.73
	no					
Sterilized equipment for hand	yes	0.87	0.36	2.06	0.74	0.830
	no					
Remove litters and feces immediately after end of rearing poultry	yes	1.24	0.36	4.35	0.73	0.760
	no					
Clean working cloth and shoe daily	yes	0.23	0.04	1.29		0.140
	no					
The number of people pass in and out of farms	1 person	0.31	0.07	1.39	0.12	0.170



	> 1 person					
The workers work in more than one farms	no	1.85	0.49	6.98	0.36	0.510
	yes					
Take measures to control mouse	yes	0.80	0.23	2.81	0.73	0.760
	no					
The frequency to eliminate mouse is more than once per season	yes	0.65	0.18	2.34	0.51	0.540
	no					
Eliminate housefly periodly	yes	0.50	0.13	1.87	0.30	0.350
	no					
Washing/cleaning hand before entering house	yes	1.04	0.30	3.60	1.00	1.000
	no					
Changes rubbers before entering house	yes	1.05	0.20	5.44		1.000
	no					
Wash hand and change working cloth/rubbers before enter another house	yes	1.00	0.19	5.15		1.000
	no					
change working cloth/rubbers before enter another house	yes	0.00	0.00			0.001
	no					
Wash hand before enter another house	yes	0.67	0.19	2.36	0.53	0.750
	no					
All chickens were all in and all out	yes	0.42	0.04	4.40		0.620
	no					
The chickens are from single origin	yes	3.59	0.98	13.16	0.05	0.060
	no					



Use groundwater for clean house	yes	0.72	0.19	2.76	0.63	0.740
	no					
Introduce new chicken less than 10 days after clean up of house	yes	1.42	0.37	5.47	0.61	0.730
	no					
Prepare feed in one week before introduce new chicken	yes	0.45	0.08	0.65		0.440
	no					
Mix chickens from different origins in the same house	yes	0.28	0.03	2.75		0.360
	no					
The highest death rate of chicken is happened in period of 1 week after introduce of new chicken	yes	1.24	0.37	4.35	0.73	0.760
	no					
The drinking water of chicken is treated	yes	0.87	0.23	3.28	0.84	1.000
	no					
Remove moldy or coagulated litter before use	yes	6.00	0.65	55.31		0.110
	no					

